

LA KOLORAĴO EN RUĜAJ VINBEROJ KAJ VINOJ DE URUGVAJO

Gayetano R. GANO MAROTTA, Gladys GROIS, kaj Jorge ARES PONS.

Laboratorio de Fermentado kaj Enologio, Fakultato de Kemio;
Montevideo, URUGVAJO.

663.253.34

La koloraĵo en la ruĝaj vinberoj de Urugvajo

Per 1% HCl-ekstraktigo kaj apartiga kromatografio (dudimensia) sur papero, uzataj de P. RIBEREAU-GAYON (1), oni pristudis la antocianajn koloraĵojn de la vinberŝeloj de 3 kulturvarioj de *Vitis Vinifera*: *Tanet* (*Harrington*), *Barbera* kaj *Nebbiolo*, kulturitaj en diversaj regionoj de la lando. Oni pristudis plue, unu klasikan hibridon (*Isabella*) kaj du modernajn hibridojn, rekte vinproduktkapablaj: *Selve-Villard*, N-roj 18.283 kaj 18.315.

La rezultantaj HCl-ekstraktoj havis $pH = 1,5$ kaj oni uzis ilin sen antaŭa koncentrado, per almeto de 100 gutoj, sekigante per malvarma ventumado. La anso uzita estis el kromo-nikelo, kaj la interna diametro de la tubo, 1.5 mm-a.

La akiritaj kromatogramoj akordiĝas kun tiuj akiritaj de P. RIBEREAU-GAYON, por similaj vinberoj.

Laborante laŭ la menciitaj kondiĉoj, la kromatogramoj de la vinberoj el *Vitis Vinifera*, ne prezentas makulojn en la regiono de la antocianaj diglukozidoj.

Ĉiuj pristuditaj hibridoj prezentas tri makulojn en la regiono de la antocianaj diglukozidoj.

Se oni prenas kiel modelon, la kromatogramojn diskonigitajn de la menciita franca esploristo, ĉi tiuj makuloj respondas al diglukozidoj de

la malvidolo, petunidoĝlo kaj delfinidolo.

Oni konfirmas tiel, la rezultatojn akiritajn en 1959 kaj 1960, pri-
sajdinte vinberojn kulturitajn en la ĉirkaŭaĵoj de Montevideo (2).

Diferencoj inter la kromatogramoj de la koloraĵo el ruĝaj vinberoj *Vitis Vinifera*, kaj tiuj de ruĝaj vinoj akiritaj el vinberoj de la sama planto

En antaŭa verkaĵo (2) ni atentigis pri la fakto, ke la adsorbkroma-
togramoj (cirklaĵoj) sur papero, akiritaj de vinoj puraj el ruĝaj vinberoj
de kulturvarioj *Vitis Vinifera*, prezentis difuzan kaj nekularan makulon en
la regiono de la antocianaj diglukozidoj. En ĉi tiu aspekto, ili difer-
encis de tiuj kromatogramoj, ankaŭ adsorbaj, sed suprenirantaj, akiritaj
de RIBEREAU-GAYON (1), per HCl-ekstraktoj de la ŝelo de ruĝaj vinberoj,
kulturvarioj *Cabernet* kaj *Merlot* (*Vitis Vinifera*).

Niajn kromatografiajn esplorojn ni faris per 12 - 15 almetoj de la
vino, sen antaŭa koncentrado.

La pH de la ekzamenitaj vinoj estis inter 3,7 kaj 4,1.

Por klarigi ĉi tiun ŝajnan anomalion, dum la vinberrikolto de la se-
kvanta jaro (1961) oni ekzamenis, per apartiga kromatografio (dudimensi-
a) sur papero, HCl-ekstraktojn el ŝeloj de ruĝaj vinberoj *Vitis Vinife-
ra*, kulturvarioj *Tanot* (*Harriague*), *Barbera*, kaj *Nebbiolo*, kaj la ruĝajn
vinojn akiritajn de ni mem el vinberoj de la sama planto de kiu oni elp-
renis la vinberojn el kies ŝeloj oni akiris la HCl-ekstraktojn.

Sammaniere oni pristudis vinojn akiritajn laŭ industria kvanto, el
vinberoj de la sama vinberejo, kiam ĉi tiu estis ekskluzive de *Vitis Vi-
nifera*.

La elektitaj vinberejoj malproksimis ĝis 200 km unu de la alia.

La uzitaj solvantoj, por la kromatografia studo, estis tiuj konsil-
itaj de RIBEREAU-GAYON (1): akva fazo kaj organika fazo de

butanolo : acetata acido : akvo :: 4 : 1 : 5

por la unua kaj la dua dimensioj, laŭ tiu ordo. Ni faris suprenirantan
kromatografiadon.

La ekstraktojn kaj la vinojn oni uzis rekte, sen antaŭa ko-
ncentrado.

Oni faris de 50 ĝis 100 almetojn per la anso, sekigante ĉiufoje per
malvarmaera ventumado.

La akiritaj rezultatoj ebligas aserti, ke la kromatogramoj de vinoj
el *Vitis Vinifera*, d i f e r e n c a s de tiuj akiritaj el la ekstra-
ktoj de la vinberŝeloj de la sama kulturvario uzita por fabriki tiun vi-
non. Eĉ pli, la diferenco postrestas inter la kromatogramoj de la vinoj

el *Vitis Vinifera*, kaj tiuj akiritaj per ekstraktado el vinberoj de la sama planto de kiu oni elprenis la vinberojn tiucele vinigitajn.

La apartigaj paperkromatogramoj (dudimensiaj) de la HCl-ekstraktoj (HCl je 1%) el vinberŝeloj de *Vitis Vinifera* prezentis nenian makulon en la regiono de la diglukozidoj, kio konfirmas denove la aserton de RIBEREAU-GAYON, akordiĝante kun niaj antaŭaj observoj (2,3).

Male, en ŝiuj koloraj vinoj el "*Vitis Vinifera*" oni akiris apartigajn paperkromatogramojn (dudimensiajn) prezentantajn vinruĝan makulon pli-malpli malfortan, en la regiono de la diglukozidoj.

Ekspozita sub UV-radioj, ĉi tiu makulo montris fortan rozan fluoreskon. Tiu ĉi fluoresko fariĝas ankoraŭ pli intensa, se antaŭe oni varmigis la kromatogramon dum 5 minutoj, je 100°C en stovo, kaj oni observas ĝin antaŭ malvarmigo.

La priskribita makulo en la regiono de la antocianaj diglukozidoj, videbligas ekde la tria tago post la komenco de la fermentado (kiu en nia lando atingas jam preskaŭ la tutan komencan sukeron).

La pH de la vinoj estis inter 3,7 kaj 4,1.

Ni atentigas pri ĉi tiuj faktoj, por la unua fojo indikitaj en Latinameriko, kaj kiuj, en tio rilata al la ekzisto de antocianaj diglukozidoj en la ruĝaj vinoj el *Vitis Vinifera*, akordiĝas kun la observoj faritaj en Eŭropo de aliaj esploristoj.

Ebla influo de la pH en la kromatografio esplorado de antocianoj

Pristudinte la kondiĉojn laŭ kiuj ni faris la kromatogramojn (supre raportitajn), ni povis konstati, ke dum la pH de la HCl-ekstrakto estis ĉ 1,5 la pH de la vino estis ĝenerale inter 3,7 - 4,1.

Por realigi la apartigajn kromatogramojn (dudimensiajn), ni almetadis 50 - 100 aldonaĵojn de la HCl-ekstraktoj, aŭ rekte de la vino sen antaŭa siropigo kiel faras la Bordeaux-esploristoj. Io simila okazadis kiam oni ekzamenis la vinojn per cirkla adsorbkromatografio. En ĉi tiuj okazoj, la aldonaĵoj estis 12 - 15 gutoj (2).

Kaŭze de la sufiĉe granda diferenco inter la hidrogenjona koncentro de la HCl-ekstraktoj el la vinberŝeloj kaj el la vino (almenaŭ 1:100) ni esploris ĉu estas iu rilato inter tiu koncentro kaj la aspekto de la rezultantaj adsorbkromatogramoj.

Por tio, parto de la HCl-ekstraktoj el vinberŝeloj de ruĝaj vinberoj *Vitis Vinifera* estis alĝustigita de pH = 1,5 al pH = 4,1 per NaOH-solvaĵo. Parto de ĉi tiu ekstrakto, pH = 4,1, estis denove acidigita al pH = 1,5. Finfine, parton de ĉi tiu lasta, oni alĝustigis alifoje je pH = 4,1.

La kromatografian esploron oni faris per cirkla adsorbkromatografio sur papero, pristudante 5 specimenojn por ĉiu ekzameno. La ekstraktojn oni uzis rekte, sen antaŭa koncentrado. Kiel eligantan likvaĵon, oni uzis solvaĵojn de citrata aŭ tartrata acidoj, je 6 o/oo. Oni almetis 12 - 15 ekstraktgutojn, sekigante ĉiufoje per malvarmaera ventumado. Kiel oni scias, ĉi tiu kromatografia procedo apartigas la koloraĵojn de la vinberŝeloj laŭ du regionoj iom disaj inter si (1):

**malsupra parto: antocianolaj monoglukozidoj,
supra parto: antocianolaj diglukozidoj.**

Ni pruvis jenon:

1) *Ekstraktoj je pH = 1,5 (originalaj):*

ni denove konfirmis la neĉeeston de diglukozidoj.

2) *Ekstraktoj je pH = 4,1:*

tute sendube, la kromatogramo diferencas kompare al la antaŭa: ĝi prezentas antocianojn en la du antaŭe menciitaj regionoj. La makulo de la diglukozida regiono elmontras intense rozan fluoreskon sub UV-radioj. Tiu ĉi fluoresko intensiĝas, se la kromatogramon oni varmigis antaŭe, dum 5 minutoj, je 100°C, kaj oni observas ĝin antaŭ malvarmiĝo.

3) *Ekstrakto alĝustigita je pH = 4,1 kaj revenigita al pH = 1,5:*

la makulo aperinta je pH = 4,1 en la regiono de la diglukozidoj multe febliĝas, sed ne tute malaperas.

4) *Ekstrakto alĝustigita je pH = 4,1; acidigita poste al pH = 1,5 kaj denove revenigita al pH = 4,1:*

la makulo en la diglukozida regiono denove pliintensiĝas.

5) *Observoj pri kolora vino el "Vitis Vinifera" acidigita ĝis pH = 1,5:*

oni faris samajn provojn al pura ruĝa vino el *Vitis Vinifera* havanta pH = 3,9 kaj kiu estis acidigita al pH = 1,5. La makulo aperigita en la diglukozida regiono je pH = 3,9 malpliĝas kiam oni acidigas ĝis pH = 1,5 sed ne tute malaperas.

Kvankam ni intencis izoli ĉi tiun eblan diglukozidon per apartiga kromatografio surpapera, ni ne sukcesis.

Ni procedis sen antaŭa koncentrado, ĉar ni ne havas malalttemperaturan vaporigilon. Aliflanke, troa pliigo en la kvanto da gutoj surmetitaj ne taŭgas, ĉar finfine la papero rompiĝas.

Malgraŭ ĉi ĉio, ni atentigas pri la observoj faritaj per adsorbkromatografio, pri kio ni ne trovis antaŭajn bibliografiajn menciojn.

Ĉesto de la diglukozido de 3-5 penidolo

Per la reakcioj menciitaj de BIOL kaj FOULONNEAU (4) ni pruvis, ke la febla makulo kun fluoresko orange-ruĝa intensa kiun ni estis observi-

ntaj en la regiono de la diglukozidoj, prezentis karakterojn de la 3-5 diglukozido de la penidolo (5).

Oni faris apartigan kromatografiadon (dudimensian) laŭ RIBEREAU-GAYON (1). Kiel en antaŭaj okazoj, oni faris 50 ĝis 80 almetojn de vino, sen antaŭa koncentrado, per la anso el nikelo-kromo. Post ĉiu almeto, oni sekigis per malvarmaera ventumado. Oni uzis vinojn de la jaroj 1964, 1963, kaj 1962.

La febla makulo en la regiono de la diglukozidoj okupis lokon tre proksiman de tiu kiun ĝi okupas, se ĉeestus la 3-5 diglukozido de la malvidolo (malvosido), sed iom pli ellokitan, supren kaj flanken. Ĝia pozicio respondas al tiu indikita de RIBEREAU-GAYON por la diglukozido de la penidolo.

Komparante ĝian fluoreskon kun tiu de la malvosido, oni observas diferencojn inter ambaŭ. Tiu makulo, kaj la makulo de la malvosido el hibrida vino, estis eksponitaj alterne, je la vaporoj el HCl kaj NH₃, observante, ĉiufoje, iliajn fluoreskojn sub la UV-radiado.

En la unua kazo (HCl) la makulo de la malvosido ŝanĝas sian koloron originalan —**brike ruĝa**— al flava, dum la makulo indikita de ni, unue oranĝkolora, poste ŝanĝas al brik-ruĝa.

En la dua kazo (NH₃) la malvosido ŝanĝas de brike-ruĝa al ĉeriz-ruĝa, dum la makulo indikita de ni ŝanĝas de oranĝkolora al viola.

Ĝiaj karakteroj do koincidas kun tiuj de la 3-5 diglukozido de la penidolo.

En ĉiuj provoj, oni uzis ruĝajn vinojn el vinberoj Cabernet, Tanat (Harriague), Barbera, aŭ Nebbiolo, kulturitaj en nia lando, en vonberejoj tute sen hibridoj.

Niaj ruĝaj vinoj el Vitis Vinifera enhavas, tamen, diglukozidon de la penidolo, kies ĉeeston en la vinberŝelo el kiuj ili originas, ni ankoraŭ ne sukcesis detekti. Ni provis diversajn solvantojn je diversaj pH kondiĉoj, kaj diversajn alkoholgradojn. En ĉiuj okazoj la rezultato estis negativa.

Kiel ni rimarkigis antaŭe, ĝia apero en la vino jam sin montras je la 3-a tago post komenco de la fermentado. En tiu okazo, dum la alkohola fermentado, oni povus supozi, ke ĝi originis el la monoglukozido de la penidolo, ĉeestanta grandkvante en ruĝaj vinberoj de Vitis Vinifera. La eksperimentoj kiujn ni faris por pruvi tion, ankoraŭ ne donis pozitivajn rezultatojn.

Finfine ni rimarkigas ke, por teknikistoj nemulte spertaj, la interpretado de izolitaj kromatogramoj povas konduki ilin al eraroj. Tial ni insistas, ke oni faru komparajn provojn, kun vinoj al kiuj oni aldonis 10 % da ruĝaj vinoj el hibridoj, kaj oni faru la observojn post submetado je vaporoj el hidroklorida acido kaj amoniako.

La materia colorante de uvas y vinos tintos de Uruguay.

Los autores, por medio de un estudio cromatográfico de vinos y extractos etilicídricos de la película de uvas tintas de *Vitis Vinifera* -cepas Tanat (Harriague), Barbera, y Nebbiola- comprobaron la ausencia de diglucósidos de antocianos de dichas uvas, pero detectaron la presencia de un diglucósido de antociano en los vinos provenientes de uvas tomadas de la misma planta. Se le identificó como el 3-5 diglucósido del pigidol. Se operó por cromatografía de partición, bidimensional, ascendente, y se usó como solventes, primero la fase acuosa y luego la fase orgánica de la mezcla butanol : ácido acético : agua :: 4 : 1 : 5.

En cromatografía por adsorción sobre papel se observó la influencia del pH del líquido cromatografiado en la observación de la mancha fluorescente.

Referencoj

- (1) RIBERAU-GAYON, P.: "Recherches sur les anthocyanes des végétaux". Application au genre *Vitis*. Thèse; Université de Bordeaux. 1959.
RIBERAU-GAYON, J. et FÉCHAUD, E.: Analyses et contrôles des vins. Librairie Polytechnique Ch. Béranger. Paris, 1959.
- (2) CANO MAROTTA, G.R. y GIOIA, M.H.: "Investigación de vinos híbridos en los cultivos con vinos de *Vitis Vinifera*"; V Congreso Panamericano de Farmacia y Biología. Santiago de Chile, 1960.
- (3) CANO MAROTTA, G.R. GROIS, G. y ARES PONS, J.: "La materia colorante en las uvas tintas del Uruguay". VIII Congreso Latinoamericano de Química. Buenos Aires, 1962. C.O.R. (Montevideo) Vol. 1, Comunicaciones 140, 141, 142 (1963)
- (4) BIOL, H. et FOUILLONNEAU, C.: Ann. Technol. Agric. 10, 345, (1961).
- (5) GROIS, G. y CANO MAROTTA, G.R.: C.O.R., Comunicación N° 226, Montevideo, 1964
- (6) RIBERAU-GAYON, P.: Ann. Physiol. Veget., (1964). "Les composés Phenoliques du raisin et du vin".