

Utjecaj glutaciona na kemijski sastav i kakvoću vina 'Pošip'

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj glutaciona na kemijski sastav i senzorna svojstva vina 'Pošip' pri čemu je njegova primjena provedena prije te tijekom primarne prerade grožđa. Uspoređivani su rezultati fizikalno kemijskog sastava vina, sadržaj otopljenog kisika i ukupnih fenola te parametara boje između kontrolnog uzorka te tretmana uz dodatak glutaciona na svježe grožđe (GG) i mošt (GM). Tretman glutacionom imao je najveći utjecaj na topljivost kisika te nijansu i intenzitet boje u tretmanu GM, dok je najviša koncentracija ukupnih fenola bila u tretmanu GG. Senzornim ocjenjivanjem vina 'Pošip' različitih tretmana nisu utvrđene značajne razlike u mirisu, okusu i općem dojmu.

Ključne riječi: 'Pošip', glutation, kisik, boja vina, ukupni fenoli

Uvod

'Pošip' je autohtona hrvatska sorta vinove loze (*Vitis vinifera* L.), vrlo vjerojatno nastala na otoku Korčuli gdje se i danas najviše uzgaja. Uskoga je areala rasprostranjenosti, ali zbog posebnog kvalitativnog potencijala te obilježja kao što su redovita i zadovoljavajuća rodnost te ranije dozrijevanje, posljednjih godina širi se s područja Srednje i Južne Dalmacije i na podregiju Sjeverna Dalmacija. Zbog atraktivnog izgleda bobica i grozda koristi se i kao stolno grožđe, a genetski potencijal za proizvodnju vrhunskih vina od sorte 'Pošip' osigurava stabilnost u vidu uzgojnih površina, odnosno neznatčan pad u proizvodnji na području Republike Hrvatske (Maletić i sur., 2015). Enološke karakteristike zbog kojih je osobito cijenjen su nakupljanje velikih količina šećera, zadovoljavajuća kiselost te osebujna aromatika vina. Osim toga, koristi se za proizvodnju različitih tipova i stilova vina te postiže vrhunske rezultate u svim kategorijama. Zbog navedenih obilježja sorte, ne nedostaje interesa za uzgojem među proizvođačima u Hrvatskoj, a vino sorte 'Pošip' jedno je od poznatijih proizvoda Dalmacije prepoznato i cijenjeno među potrošačima (Jagatić Korenika, 2015).

Glutation je tripeptid koji se sastoji od aminokiselina glutamata, cisteina i glicina. Njegova glavna uloga je održavanje antioksidativne stabilnosti u stanicama mnogih živih bića. Mnogobrojna su istraživanja koja dokazuju njegov pozitivan utjecaj pri sprječavanju oksidativnih procesa u vinu. Naime, njegova uloga je zamijećena u održavanju nijanse i intenziteta boje, prilikom čega ne dopušta razvoj negativnih smeđih tonova vezanih uz prisutnost kisika. Prilikom reakcije polifenolnih spojeva s kisikom, glutation se veže na o-kinone i ne dopušta daljnje reakcije koje bi uzrokovale posmeđivanje vina. Osim toga, štiti spojeve zaslužne za aromatski profil vina te sprječava formiranje spojeva netipične arome starenja, odnosno degradaciju arome vina. Uz to, sudjeluje u formiranju prekursora koji metabolizmom kvasaca ili kiselom hidrolizom prelaze u hlapljive tiolne spojeve koji definiraju aromu vina mnogih sorata. Prema rezultatima nekih istraživanja, glutation može imati i negativan utjecaj na aromu vina, uslijed

¹ prof.dr.sc. Ana Jeromel, izv.prof.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

* Ivana Vinček, student - Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska
Autor za korespondenciju: amjagatic@agr.hr

nedovoljne količine kvascima dostupnog dušika, koji tada koriste glutacion kao izvor aminokiselina potrebnih za rast i razvoj (Kritzinger i sur., 2013). Razgradnja glutaciona, odnosno cisteina, može uzrokovati povećanje količine sumporovodika u reduktivnim uvjetima fermentacije. Dodajmo tome kako utjecaj glutaciona na očuvanje boje vina, u više slučajeva kada se mjerenje odvijalo nakon dužeg vremenskog perioda dozrijevanja, nije dokazan (Kritzinger i sur., 2013).

Polifenolni spojevi velika su grupa reaktivnih spojeva prisutnih u grožđu i vinu, a imaju mnogobrojne uloge u vinu, kao što su antimikrobna i antioksidativna zaštita te utjecaj na boju, miris i okus. Dijeleg se na flavonoide (flavonoli, antocijani i flavan-3-oli) i neflavonoide (fenolne kiseline i stilbeni). Crne sorte grožđa bogatije su polifenolima, a zbog njihovog pozitivnog djelovanja na svojstva vina te potencijalno na ljudsko zdravlje, uslijed antioksidativne aktivnosti, mnogim ampelotehničkim i enološkim zahvatima pokušava se povećati i zadržati njihova ukupna količina i u vinima bijelih sorata. Veći udio polifenolnih spojeva sadržan je u sjemenkama, zatim slijedi kožica bobica, a najmanji udio nalazi se u mesu bobica (Moreno i Peinado, 2012; Jackson, 2014; Jagatić Korenika, 2015). Fenolne kiseline često imaju negativan utjecaj na karkvuću i stabilnost vina jer sudjeluju u stvaranju taloga, a osim toga, uzrok su promjene nijansi i intenziteta boje vina jer reagirajući s kisikom mijenjaju pigmentaciju (Budić-Leto i Lovrić, 2002). Koncentracija ukupnih fenola u vinu razlikuje se s obzirom na sortu, klimatske uvjete te područje uzgoja, ampelotehničke zahvate tijekom vegetacije i enološke postupke tijekom prerade i proizvodnje vina. Vrijednosti ukupnih fenola povećane su ako je loza tijekom vegetacije bila izložena stresnim uvjetima (Jagatić Korenika, 2015).

Suvremena proizvodnja bijelih vina podrazumijeva najveću moguću ekstrakciju sortnih aroma i sintezu fermentacijskih aroma, kao i njihovo očuvanje tijekom prerade i dozrijevanja vina. U svrhu zaštite od oksidacije aromatskih spojeva koriste se mnogobrojni antioksidansi, između ostalih i glutacion. Primjenjuje se tijekom primarne prerade, a prema mnogobrojnim istraživanjima utječe na stabilizaciju i očuvanje spojeva arome i boje od štetnog utjecaja kisika. Njegova je djelotvornost izražena kod bijelih i rosé vina, osobito vina složenog aromatskog profila kojima produžuje životni vijek i održava prepoznatljivost. Iz tog razloga provedeno je istraživanje o učinku glutaciona na vino 'Pošip'.

Materijali i metode

Proizvodnja vina

Grožđe sorte 'Pošip' pobrano je u plastične posude od 20 kg (4 x 20 kg po tretmanu) 02. rujna 2020. g., na području vinogradarske podregije Sjeverna Dalmacija. Grožđe je transportirano isti dan u hladnjači do eksperimentalnog podruma Agronomskog fakulteta u Zagrebu gdje je provedena primarna prerada. U kontrolni tretman dodano je 100 mL 5%-tne H_2SO_3 na 100 L mošta, a tretman grožđa (GG) dodano je 30 g glutaciona na 100 kg grožđa, a tretman mošta (GM) 30 g glutaciona na 100 L mošta. Upotrijebljen je komercijalni pripravak na bazi inaktivnih kvasaca obogaćenih glutacionom (Glutastar, Lallemand, Kanada). Prilikom primarne prerade u moštovu tretmana GG i GM dodano je i 50 mL 5% H_2SO_3 /100 L mošta. Nakon aplikacije glutaciona te sulfitriranja, moštovi su taloženi 24 h u staklenim posudama, nakon čega su rastočeni u staklene posude u tri ponavljanja. Slijedila je inokulacija rehidriranim *Saccharomyces cerevisiae* sojem kvasca (Lalvin Sauvvy™, Lallemand), uz dodatak hrane za kvasce Stimula Sauvignon blanc (Lallemand) i kompleksnog hranjiva Fermaid E (Lallemand). Po završetku fermentacije (15. rujna 2020. g.) vina su odvojena od taloga kvasaca, a za potrebe fizikalno-kemijske analize uzeti su uzorci od 500 mL vina.

Fizikalno–kemijska analiza vina

Osnovna analiza fizikalno-kemijskih parametara u vinu provedena je prema metodama OIV-a (2012), u laboratoriju Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu.

Ukupna kiselost u vinima, izražena u g/L kao vinska kiselina, određivana je metodom neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi. pH vrijednost određena je mjerenjem na pH-metru Lab 845 (SI Analytics). Upotrebom Paulove alkalimetrijske metode određene su količine sumpornog dioksida, slobodnog i ukupnog.

Analiza otopljenog kisika u vinu

Otopljeni kisik u vinu analiziran je upotrebom multimetra HQ440d multi, sa sondom za mjerenje LD0101. Mjerni elementi sonde bili su potopljeni u vinu, a mjerenje je trajalo 30-60 sekundi. Aparat je izmjerene vrijednosti kalibrirao s obzirom na temperaturu uzorka.

Analiza ukupnih fenola u vinu

Ukupni fenoli mjereni su prema Folin-Ciocalteu metodi upotrebom spektrofotometra Lambda XLS+ (PerkinElmer) na 765 nm valne duljine. Rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline, GAE mg/L. Reagens je napravljen dodavanjem 200 g natrijevog karbonata u 800 mL destilirane vode. Ta otopina zagrijavala se do vrenja, a nakon hlađenja u nju se dodalo nekoliko kristala Na_2CO_3 . Nakon 24 h otopina je filtrirana i razrijeđena destiliranom vodom do 1000 mL. Postupak pripreme uzoraka za mjerenje u spektrofotometru započeo je pipetiranjem 100 μL vina u odmjernu tikvicu u koju se dodalo još 6 mL destilirane vode i 50 μL Folin Ciocalteu-ovog reagensa. Smjesa je zatim miješana 8 minuta i 30 sekundi te je zatim dodano 2 mL 20%-tne otopine natrijevog karbonata. U odmjernu tikvicu dodano je destilirane vode do oznake. Pripremljena otopina zagrijavana je 16 minuta u vodenoj kupelji na 50 °C.

Analiza parametara boje u vinu

Boja vina analizirana je na spektrofotometru Lambda XLS+ (PerkinElmer). Mjerila se apsorbancija pri valnim duljinama 420 nm, 520 nm i 620 nm. Vrijednosti intenziteta i nijanse boje te udjeli glavnih boja u vinu dobiveni su računskim putem, upotrebom sljedećih formula: CI – intenzitet boje = $A_{420} + A_{520} + A_{620}$; CT – nijansa boje = A_{420} / A_{520} ; % Ye (udio žute) = $(\text{Abs } 420/\text{CI}) \times 100$; % Rd (udio crvene) = $(\text{Abs } 520/\text{CI}) \times 100$; % Bl (udio plave) = $(\text{Abs } 620/\text{CI}) \times 100$.

Senzorno ocjenjivanje

Senzorna analiza provedena je nakon 5 mjeseci dozrijevanja vina, uz pomoć 8 certificiranih ocjenjivača, primjenom opisne metode te metode redoslijeda. Svaki uzorak (30 mL vina) ponuđen je u standardnim ISO 3591 čašama, a prezentiran pod šifrom (POŠ 068, GG i GM). Ocjenjivači su intenzitet pojedinih senzornih svojstava ocjenjivali na bodovnoj skali od 0 (najmanje izraženo) do 5 (najviše izraženo). Ocjenjivao se vizualni doživljaj vina (intenzitet, nijansa i kakvoća boje), miris (cvjetni, voćni, suho/prosušeno voće, orašasto voće, biljni miris te ostalo), okus vina (kiselost, gorčina, astringencija, tijelo, harmoničnost i aftertaste) te opći dojam o vinu s obzirom na gore navedena svojstva. Naglasak je stavljen na boju vina, aromatski profil te opći dojam.

Statistička analiza

Razlike u kemijskom sastavu vina te utjecaju tretmana na kakvoću različitih varijanti vina sorte 'Pošip', testirane su faktorskom analizom varijance (ANOVA). Značajnost razlika između razina faktora testirana je na razini značajnosti $p \leq 0,05$, uz Bonferonijevu korekciju. Za sve analize varijance upotrebljavala se procedura iz statističkog paketa SAS (SAS Institute, Cary NC).

Rezultati i rasprava

Osnovna fizikalno-kemijska svojstva vina

Tablica 1. Fizikalno–kemijski parametri vina ‘Pošip’
Table 1. Physicochemical parameters of Pošip wines

	Kontrola/Control	GG	GM
Ukupna kiselost/ Total acidity (g/L)	7,6 ^a	7,2 ^b	7,2 ^b
pH	3,03 ^a	3,06 ^a	2,98 ^a
Slobodni/Free SO ₂ (mg/L)	30,0 ^b	49,0 ^a	48,0 ^a
Ukupni/Total SO ₂ (mg/L)	99,0 ^b	105,0 ^a	97,0 ^b

GG–glutation na grožđu/glutathione on grape; GM–glutation u moštu/ glutathione in juice
Srednje vrijednosti označene različitim slovima (^{a,b,c}) u istom redu, signifikantno su različite pri $p \leq 0.05$

Tablica 1. prikazuje rezultate mjerenja osnovnih parametara vina. Iz rezultata je vidljivo kako je ukupna kiselost u vinima svih tretmana usporediva s vrijednostima prema Maletić i sur. (2015) iznadprosječna za vino sorte ‘Pošip’. Tretmani GG i GM ne razlikuju se međusobno prema vrijednostima ukupne kiselosti, međutim njihova vrijednost je značajno niža u odnosu na kontrolni uzorak. Prema dobivenim rezultatima zaključujemo kako među uzorcima, odnosno tretmanima nema značajnih razlika u pH vrijednosti. Prema rezultatima mjerenja vidljiv je manji gubitak sumporovog dioksida u tretmanima s glutationom. Naime, koncentracija slobodnog SO₂ značajno je niža u kontrolnom vinu u odnosu na tretmane GM i GG. Razlog tome se može pripisati antioksidativnoj aktivnosti glutationa koji sprječava redukciju slobodnog SO₂ u vinu. Može se zaključiti kako je glutacion omogućio bolju antioksidativnu zaštitu za duži period dozrijevanja vina.

Otopljeni kisik i boja vina

Tablica 2. Koncentracija otopljenog kisika u vinima ‘Pošip’
Table 2. Concentration of dissolved oxygen in Pošip wines

	Otopljeni kisik/ Dissolved oxigen (mg/L)
Kontrola/ Control	2,31 ^b
GG	2,75 ^b
GM	5,10 ^a

GG–glutation na grožđu/glutathione on grape; GM–glutation u moštu/ glutathione in juice
Srednje vrijednosti označene različitim slovima (^{a,b,c}) u istom redu, signifikantno su različite pri $p \leq 0.05$

Tablica 3. Parametri boje vina ‘Pošip’
Table 3. Color parameters of Pošip wines

	Kontrola/ Control	GG	GM
A (420 nm)	0,118	0,124	0,060
A (520 nm)	0,055	0,064	0,026
A (620 nm)	0,042	0,050	0,022
Cl	0,215	0,238	0,108
CT	2,145	1,937	2,308
% Ye	54,88	52,10	55,55
% Rd	25,58	26,89	24,07
% Bl	19,53	21,00	20,37

GG–glutation na grožđu/glutathione on grape; GM–glutation u moštu/ glutathione in juice

Iz rezultata prikazanih u Tablici 2. vidljiva je značajna razlika između koncentracije otopljenog kisika u kontrolnom tretmanu i tretmanu GG u odnosu na tretman GM. Niže koncentracije kisika prisutne u kontrolnom uzorku dokazuju antioksidativnu aktivnost sumporovog dioksida. Osim toga, prema rezultatima, tretman primjene glutaciona na grožđe također ima zadovoljavajuću ulogu u očuvanju oksidativne stabilnosti. S obzirom na rezultate mjerenja parametara boje vina prikazane u Tablici 3., možemo zaključiti kako je glutacion dodan u mošt (GM) imao značajniju ulogu u očuvanju nijanse i intenziteta boje vina. Dokaz tome je upravo povećana količina otopljenog kisika te vidljivo manji intenzitet boje vina nego u druga dva slučaja. Na Slici 1. prikazana je jasna razlika u boji vina gdje je prvi i najintenzivniji uzorak kontrolni, u sredini uzorak GG te treći uzorak tretman GM, vidljivo najsvjetlije nijanse i najmanje intenzivne boje.



Slika 1. Razlika u nijansi i intenzitetu boje vina 'Pošip'
Picture 1. Differences in the tone and intensity of of the wine Pošip color

Pri apsorbanciji na 420 nm, vrijednosti su najveće kod tretmana GG, a najmanje kod tretmana GM (Tablica 3.). Zaključujemo kako je glutacion dodan u mošt djelovao antioksidacijski te spriječio posmeđivanje uslijed oksidacije fenolnih spojeva. CI vrijednost također je najveća u slučaju GG što se može povezati s ukupnim fenolima čija je koncentracija bila najviša u slučaju tretmana glutaciona na grožđu (Tablica 4.).

Ukupni fenoli

Tablica 4. Ukupni fenoli u vinima 'Pošip'
Table 4. Total phenols in Pošip wines

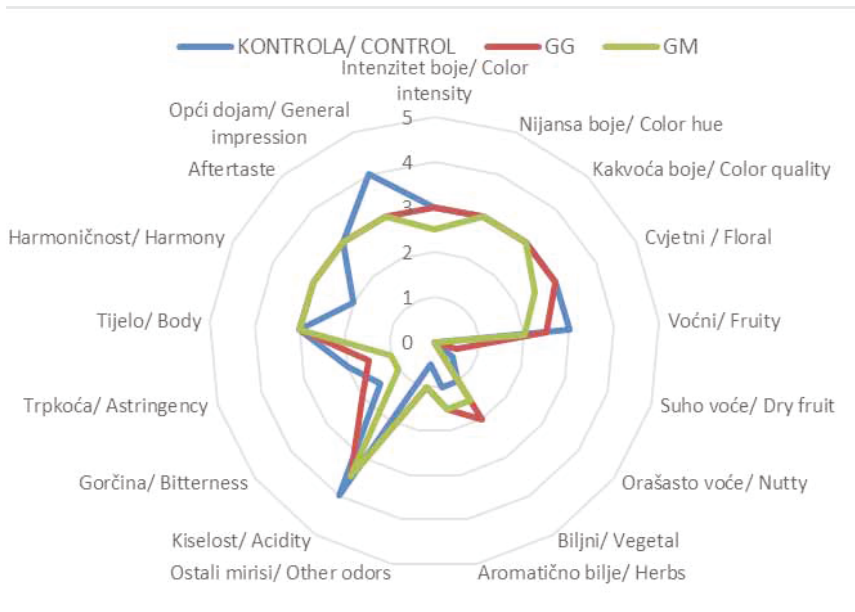
	Ukupni fenoli /Total phenols (mg/L)
Kontrola/ Control	264 ^b
GG	307 ^a
GM	264 ^b

GG-glutacion na grožđu/glutathione on grape; GM-glutacion u moštu/ glutathione in juice
Srednje vrijednosti označene različitim slovima (^{a,b,c}) u istom redu, signifikantno su različite pri $p=0.05$

U Tablici 4. je vidljivo kako je koncentracija ukupnih fenola bila jednaka u kontrolnom vinu i vinu tretmana glutacion mošt (264 mg/L). Tretman GG imao je značajno više ukupnih fenola, 307 mg/L GAE. Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti kako je dodatak glutaciona na svježe grožđe utjecao na smanjenje redukcije količine polifenolnih spojeva. Odnosno, spriječio je ranu oksidaciju polifenolnih spojeva te očuvao sastav bobica nakon primarne prerade.

Senzorno ocjenjivanje vina

Sva vina u istraživanju ocijenjena su opisnom metodom i metodom redoslijeda. Analizom rezultata dobivenih metodom redoslijeda, prema ukupnom zbroju bodova, vino tretmana GG bilo je najbolje rangirano. S druge strane, vino tretmana GM s najvećim zbrojem bodova bilo je posljednje prema kakvoći.



Grafikon 1. Senzorno ocjenjivanje vina 'Pošip' opisnom metodom
Graph 1. Sensory evaluation of Pošip wines by description method

Grafikon 1. prikazuje usporedbu rezultata senzornog ocjenjivanja vina opisnom metodom. Po intenzitetu boje izdvojio se kontrolni tretman dok je najniža vrijednost bila povezana s tretmanom GM. S druge strane, kakvoća boje vina tretmana GG ocijenjena je kao najbolja. Kontrolni tretman se nije razlikovao značajno u ocjeni kakvoće boje, međutim tretman GM bio je slabije ocijenjen. Niža ocjena za kakvoću i intenzitet boje vina GM dijelom proizlazi i iz netipičnosti boje vezane uz vina bijele sorte iz zone C2.

Vidljiva je i ovisnost aromatskog profila vina o tretmanu. Naime, kontrolni uzorak imao je izraženije voćne, a manje intenzivne biljne arome od druga dva tretmana. Tretman GG imao je izraženije cvjetne i voćne arome od tretmana GM. Tretman GM imao je slabije rezultate za sve važne aromatske komponente mladog vina sorte 'Pošip' u usporedbi s kontrolom i tretmanom GG.

U svim uzorcima bila je naglašena kiselost što je u skladu s osnovnim sastavom vina. Tretman GG imao je bolje rezultate za tijelo i harmoničnost od druga dva tretmana. „Aftertaste“ (trajanje okusa) bio je izraženiji kod tretmana GM. Opći dojam bio je između dobrog i kvalitetnog za sva tri vina, bez značajnih razlika. Gorčina vina i opći dojam vina nisu se razlikovali značajno među tretmanima što je u skladu s Kritzinger i sur. (2013) koji navode da dodatak glutaciona u koncentraciji od 20 mg/L nema negativan utjecaj na okus vina.

Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata o utjecaju dodatka glutationa na kemijski sastav i kakvoću vina sorte 'Pošip' zaključujemo kako su najveće razlike utvrđene kod nijanse i intenziteta boje vina tijekom petomjesečnog dozrijevanja. Koncentracija ukupnih fenola bila je viša u vinu od grožđa tretiranog glutationom (GG). Utjecaj glutationa na senzorna svojstva vina sorte 'Pošip', točnije *aftertaste* bio je nešto izraženiji uslijed dodatka glutationa u mošt (GM). U istoj varijanti zabilježena je i viša koncentracija otopljenog kisika koja nije utjecala na senzorna svojstva vina. Zaključujemo kako u ovom istraživanju glutation nije značajno utjecao na razvoj kompleksnijeg aromatskog profila vina sorte 'Pošip', njegov je utjecaj bio značajniji u vidu održavanja boje vina i sprječavanja oksidacije polifenolnih spojeva.

Literatura

- Budić-Leto, I., Lovrić, T. (2002) Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac. *Food Technol. Biotechnol.*, 40 (3), 221–225.
- Jackson R.S., (2014) Wine Science: Principles and Applications. Fourth Edition. USA: Elsevier.
- Jagatić Korenika A.-M. (2015) Utjecaj hladne maceracije na polifenolni sastav i senzorna svojstva vina kultivara Pošip, Maraština, Malvazija, Kraljevina i Škrlet (*Vitis vinifera* L.). Doktorska disertacija. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Kritzinger E.C., Bauer F.F., Du Toit W.J. (2013) Role of Glutathione in Winemaking: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 269–277.
- Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I., Preiner D., Zdunić G., Bubola M., Stupić D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015) *Zelena knjiga – Izvorne hrvatske sorte vinove loze*. Zagreb: Državni zavod za zaštitu prirode.
- Moreno J., Peinado R. (2012) *Enological Chemistry*. UK: Academic Press, Elsevier.

Prihvaćeno/Received: 12.1.2022.

Prihvaćeno/Accepted: 18.3.2022.

Original scientific paper

Influence of glutathione on chemical composition and quality of the Pošip wine

Abstract

The aim of this study was to determine the impact of glutathione addition before and during primary processing on the basic physicochemical parameters and sensory properties of Pošip wine. The following measurement results were compared between the control sample, the glutathione treatment of fresh grapes (GG) and the addition of glutathione to must (GM): dissolved oxygen in wine, total phenols, color and sensory evaluation of wine. The results have shown the glutathione to have the greatest impact on oxygen dissolution and color hue and intensity in the GM sample, while the most total phenols were obtained in GG treatment. Sensory evaluation did not reveal significant differences in the aromatic profile, taste, and general impression between Pošip wines.

Keywords: Pošip, glutathione, oxygen, wine color, total phenols