

UDK 63

ISSN 1512-6412=Agroznañe

АГРОЗНАЊЕ

Agro-knowledge Journal

University of Banjaluka, Faculty of Agriculture

Vol. 12, br. 4. 2011.

Данијела Раичевић, Звонимир Божиновић, Михаил Петков, Славко Мијовић, Татјана Поповић, Виолета Иванова Effect of Pectolytic Enzyme on the Chemical and Polyphenolic Content and Sensorial Properties of Vranac Wines	437
Утицај пектолитичког ензима на хемијски и полифенолни састав и на сензорна својства вина Вранац	

Наташа Кљајић, Жељко Кљајић, Сретенка Марковић Optimal Irrigation Regime of Raspberry Production Using Drip Irrigation System	445
Оптимални режим наводњавања малине методом капања	

ПРЕТХОДНА САОПШТЕЊА

Драгица Стојиљковић, Мирослав Милаковић Lang 's Rain Factor and Statistical Significance of Rainfall Median Values in Bačka	455
Кишни фактор Ланга и статистичка значајност медијалних вредности падавина у Бачкој	

СТРУЧНИ РАДОВИ

Мирко Кулина, Мирјана Радовић, Дејана Тешановић, Мирјана Мојевић, Influence of Phytohormones on Rooting Cuttings of Ripe Blackberries (<i>Rubus</i> sp.)	463
Утицај фитохормона на оживљавање зрелих резница купине (<i>Rubus</i> sp.)	

Горан Дугалић, Никола Бокан, Слободан Катић, Миодраг Јелић The Effect of Lime and Manure on Changes in Agrochemical Properties of Pseudogley Under Alfalfa Cultivation	469
Утицај креча и стајњака на промене агрохемијских особина псеудоглеја	

Упутство ауторима	475
-------------------------	-----

Uticaj pektolitičkog enzima na hemijski i polifenolni sastav i na senzorna svojstva vina Vranac

Danijela Raičević¹, Zvonimir Božinović², Mihail Petkov²,
Slavko Mijović¹, Tatjana Popović¹, Violeta Ivanova³

¹ *Biotehnički fakultet Podgorica, Univerzitet Crne Gore*

² *Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana, Univerzitet „Sv.Kiril i Metodij“ , Skopje, Republika Makedonija*

³ *Zemjodjelski fakultet, Univerzitet „Goce Delčev“, Štip, Republika Makedonija*

Rezime

U ovom radu su prikazani rezultati trogodišnjeg ispitivanja uticaja enološkog enzima na hemijski i polifenolni sastav i na senzorna svojstva vina Vranac. Vino je proizvedeno tradicionalnim načinom u vinarskom podrumu Biotehničkog fakulteta, koji se nalazi na Oglednom imanju u Podgorici, lokalitet Lješkopolje, Podgorički subregion. U proizvodnji je korišćen pektolitički enzim (Lallzyme EX-V, Lallemand). Rezultati istraživanja pokazuju da je enzim uticao na bolju ekstrakciju poliefenolnih materija i bolja senzorna svojstva vina u odnosu na kontrolno vino, gdje je u kljuk dodat samo selekcionisani kvasac. Vina tretirana enzimima pri maceraciji su sa većim sadržajem ukupnih polifenola, antocijana, flavan-3-ola, jačim intenzitetom i nijansom boje vina.

Ključne riječi: Vranac, pektolitički enzim, ukupni polifenoli, antocijani, flavan-3-oli

Uvod

U proizvodnji crvenih vina, u cilju postizanja boljeg kvaliteta, primjenjuju se različite tehnologije i koriste određena enološka sredstava. Pravilna upotreba enoloških sredstava je, uz kvalitetno i dobro prerađeno grožđe, jedan od osnovnih uslova za dobijanje dobrog i kvalitetnog vina.

Enzimi su proteini visokih molekulskih masa, koji igraju ključnu ulogu u složenim biohemijskim procesima u proizvodnji vina. Kvasac u sebi stvara veliki broj različitih enzima (riječ enzim znači "u kvascu"). Enzimi kataliziraju prelazak šećera u alkohol u toku alkoholnog vrenja. Dodavanje pektolitičkih enzima u tehnologiji vina može imati višestruko dejstvo: bolja ekstrakcija soka, bistrenje šire, stabilizacija i ekstrakcija bojenih materija, bolja organoleptička svojstva vina, oslobađanje arome.

Tretman s pektolitičkim enzimima daje crveno vino s nisko-molekularnim derivatima fenola i flavan-3-ola i njihov sadržaj se održava u velikim količinama, čak i tokom starenja (Revilla i Gonzalez-San Jose, 2003). Uticaj enzima na ekstrakciju boje je vrlo promjenljiv i zavisi od mnogih faktora, između ostalih, sorte grožđa (Bautista-Ortin i sar., 2005).

Cilj istraživanja je da se ustanovi da li je, i u kojoj mjeri enzim uticao na ekstrakciju polifenola iz grožđa u vino i na kvalitet vina i, na taj način, dobije potvrda opravdanosti primjene enzima u proizvodnji vina Vranac.

Materijal i metode rada

Istraživanje hemijskog i polifenolnog sastava, kao i senzornih svojstava vina u zavisnosti od dodavanja pektolitičkog enzima, vršeno je na autohtonoj crnogorskoj sorti vranac u vremenskom periodu od 2008. do 2011. godine.

Grožđe je brano u punoj tehnološkoj zrelosti. Nakon muljače, gdje je odvajana peteljka, kljuk se smještao u sudove za fermentaciju (4 PVC suda), kljuk je sumporisan i dodata su enološka sredstva u zavisnosti od varijante. U prvoj varijanti (V-1) je u kljuk dodan samo selekcionisani kvasac (BDX, Lallemand) u količini od 10 gr/hl, a u drugoj varijanti (V-2) su dodata ista količina selekcionisanog kvasca (BDX) i enzim (Lalzyme EX-V, Lallemand) u količini od 2 gr/100 l. Potapanje kljuka je vršeno ručno. Nakon završene fermentacije, vršeno je otakanje u sudove za odležavanje vina.

Izvršena je analiza polifenolnog sastava grožđa, hemijskog i polifenolnog sastava šire i vina i senzorno ocjenjivanje ispitivanih vina, 3 mjeseca nakon završetka fermentacije.

Ekstrakcija fenola iz pokožice je vršena metodom opisanom od strane Ivanova i sar.2010. Za određivanje ukupnih fenola u grožđu i vinu se koristila Folin-Chiocalteu metoda (objavljena od Slinkard i Singleton, 1977). Određivanje ukupnih antocijana je vršeno metodom koju je razradio Stonestreet 1965.god., a opisana je od strane Ribereau-Gayon i sar .1972.god. *Intenzitet i nijansa boje* su određeni metodom prema Sudraud-u, opisanom u Recueil d' OIV (1990). Sadržina ukupnih flavan-3-ola je vršena pomoću metode *p*-DMACA (Di Stefano i Cravero, 1989, Ivanova et al. 2010). Senzorna svojstva vina je utvrđena degustacijom - metoda poentiranja-bodovanja (max.20 bodova): bistrina (0-2), boja (0-2), miris (0-4) i ukus (max.12).

Statistička obrada podataka je urađena preračunavanjem srednje vrijednosti, relativne standardne devijacije i ANOVA (Student Newman-Klaus test) sa ciljem da se utvrde moguće značajne razlike među analiziranim vinima. Statistički značajnom razlikom se smatra $p > 0.05$.

Rezultati rada i diskusija

U cilju određivanja uticaja pektolitičkog enzima na procenat ekstrakcije polifenolnih materija iz grožđa u vino, i samim tim na kvalitet vina, određen je sadržaj polifenola u grožđu, hemijski i polifenolni sastav šire i vina i senzorno su ocijenjena ispitivana vina.

Polifenolni sastav grožđa sorte vranac

Na osnovu rezultata koji su prikazani u Tab. 1 može se konstatovati da se grožđe sorte vranac odlikuje bogatim polifenolnim sadržajem. Sadržaj ukupnih polifenola u sjemenkama i pokožici iznosi 6635 mg/kg, antocijana u pokožici 3904 mg/kg, dok je sadržaj ukupnih flavan-3-ola 1381 mg/kg, u sjemenkama i pokožici grožđa. Vrijednosti koeficijenta varijacije, u tri istraživačke godine, pokazuju da je najmanje varirao sadržaj ukupnih antocijana u grožđu ($C_v=0.41\%$).

Tab. 1. Polifenolni sastav grožđa sorte vranac (mg/kg)
Polyphenolic content of vranac grapes (mg/kg)

Godina berbe/ Year of Harvest	Uk. polifenoli/ Total polyphenols (mg/kg) (sjemenke i pokožica)/(seeds and skins)	Uk. antocijani/ Total anthocyanins (mg/kg) (pokožica)/(skins)	Uk. flavan-3-oli / Total flavan-3-ols (mg/kg) (sjemenke i pokožica)/(seeds and skins)
2008	6580±45	3900±25	1380±26
2009	6755±38	3921±46	1411±23
2010	6571±85	3890±38	1353±17
<i>x</i>	6635±56	3904±36	1381±22
<i>C_v</i> %	1.56	0.41	2.10

*Rezultati su srednja vrijednost od 3 mjerenja ± SD (standardna devijacija)

Najveći sadržaj svih ispitivanih parametara je konstatovan 2009. godine. Sadržaj ukupnih polifenola je iznosio 6775 mg/kg, ukupnih antocijana 3921 mg/kg, dok je flavan-3-ola bilo 1411 mg/kg.

Hemijski sastav šire i vina ispitivane sorte vranac

Prosječni sadržaj šećera u širi, u toku trogodišnjeg istraživanja, je iznosio 229g/l, a ukupnih kisjelina 4.88 g/l, što je karakteristično za sortu vranac. Student Newman-Klaus testom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike ($p<0.05$) u vrijednostima ispitivanih parametara šire u tri različite godine berbe.

Tab. 2. Hemijski sastav šire
Chemical composition of must

Godina berbe/ Year of Harvest	Šećer/ Sugar (g/l)	Ukupne kis. / Total acids (g/l)	pH	Indeks slasti/ Index sweetness	Spec. težin/ Specific gravity	Ukupni fenoli / Total phenols (g/l)	Uk. antocijani (mg/l)/ Total anthocyanins	Intezitet boje/ Color intensity	Nijansa/ Hue
2008	229±2	4.95±0.3	3.4±0.03	46.3±1.1	1095±0.2	0.56±0.01	76.25±8.5	0.80±0.01	0.64±0.02
2009	232±1	4.60±0.4	3.51±0.01	50.4±1.3	1099±0.4	0.59±0.02	76.5±4.6	0.81±0.03	0.67±0.01
2010	227±2	5.10±0.6	3.31±0.01	44.5±1.6	1093±0.4	0.55±0.01	76.0±7.7	0.79±0.05	0.68±0.01
<i>x</i>	229±2	4.88±0.4	3.40±0.02	47.1±1.33	1096±0.3	0.57±0.01	76.25±6.9	0.80±0.03	0.66±0.01
<i>C_v</i> %	1.09	5.25	2.94	6.42	0.28	3.67	0.33	1.25	3.14

*Rezultati su srednja vrijednost od 3 mjerenja ± SD (standardna devijacija)

Na osnovu rezultata prikazanih u Tab.3 može se uočiti da upotreba enzima nije imala statistički značajan uticaj ($p > 0.05$) na hemijski sastav vina.

Tab.3. Hemijski sastav ispitivanih Vranac vina
Chemical composition of Vranac wines

Godina berbe / Year of harvest	Relativna gustina/ Relative density	Alkohol (vol%)/ Alcohol	Ukupni ekstrakt (g/l)/ Total extract	Ukupne kiseline (g/l)/ Total acids	Isparljive kiseline (g/l)/ Volatile acids	pH	Vinska kiseline (g/l)/ Tartaric acid	Kalijum (mg/l)/ Sodium	Redukujućii šećer (g/l)/ Reductive sugar
V-1									
2008	0.9938±0.001	13.0±0.4	27.9±0.6	5.65±0.4	0.46±0.03	3.46±0.04	3.31±0.1	836±45	1.9±0.2
2009	0.9940±0.003	13.3±0.1	29.4±0.7	5.5±0.3	0.45±0.07	3.38±0.02	3.32±0.08	837±37	2.0±0.07
2010	0.9930±0.002	12.8±0.2	25.5±0.4	5.95±0.6	0.45±0.04	3.31±0.05	3.32±0.12	836±75	2.3±0.1
x	0.9936±0.002	13.0±0.23	27.6±0.56	5.70±0.43	0.45±0.05	3.38±0.04	3.32±0.1	836±52.3	2.1±0.12
CV%	0.05	1.93	7.13	4.02	1.27	2.22	0.17	0.07	10.07
V-2									
2008	0.9937±0.003	13.3±0.6	28.7±1.1	5.90±0.4	0.43±0.05	3.34±0.06	3.25±0.2	850±74	2.0±0.1
2009	0.9939±0.006	13.5±0.5	29.7±0.9	5.60±0.5	0.44±0.07	3.38±0.07	3.33±0.14	838±59	2.1±0.6
2010	0.9940±0.005	13.0±0.7	28.7±0.8	5.98±0.4	0.43±0.1	3.30±0.04	3.33±0.15	839±68	2.3±0.3
x	0.99387±0.005	13.3±0.6	29.0±0.93	5.83±0.43	0.43±0.07	3.34±0.06	3.30±0.16	842±67	2.1±0.33
CV%	0.02	1.89	1.99	3.44	1.33	1.19	1.40	0.79	7.16

*Rezultati su srednja vrijednost od 3 mjerenja ± SD (standardna devijacija)

Polifenolni sastav kontrolnog vina

Na osnovu podataka iz Tab. 4 se vidi da vina varijante V- 2 imaju veći sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na vina varijante V1, pri čemu najveći sadržaj ispitivanog parametra ima vino iz 2009.godine. Razlika u sadržaju ukupnih polifenola u vinima 2008.i 2010.nije statistički značajna (>0.05). Sadržaj antocijana je približnih vrijednosti kod vina svih godina berbe, kao i kod obje varijante, što znači da enzim nije značajno uticao na sadržaj ukupnih antocijana. Što se tiče sadržaja flavan-3-ola, veći sadržaj je evidentiran u vinima sa primjenom enzima (V-2), u odnosu na kontrolno vino (V-1) Posmatrajući sadržaj ovog parametra po godinama istraživanja može se uočiti da je najveći sadržaj zabeležen kod vina varijante V-2 iz 2010.god. Na osnovu navedenog evidentno je da enzim značajno doprinosi boljoj ekstrakciji flavan-3-ola u toku vinifikacije. U odnosu na intenzitet boje i nijansu vina, utvrđeno je da enzim ne doprinosi statistički značajnoj razlici između ispitivanih varijanti .($p<0.05$).

Tab.4. Polifenolni sastav ispitivanih Vranac vina
Polyphenolic content of Vranac wines

Godina berbe/ Year of harvest	Ukupni polifenoli/ Total polyphenols (mg/l)	Uk. antocijani / Total anthocyanins (mg/l)	Uk. flavan 3-oli/ Total flavan-3-ols (mg/l)	Intenzitet boje/ Color intensity	Nijansa/ Hue
V-1					
2008	1600±106	580±57	112±25	3.70±0.06	0.26±0.06
2009	1785±89	600±48	145±14	3.80±0.08	0.25±0.04
2010	1620±116	550±39	167±20	3.75±0.07	0.24±0.04
x	1668±103	577±48	142±19.6	3.75±0.07	0.25±0.05
Cv%	6.08	4.36	19.86	1.33	4.0
V-2					
2008	1730±135	595±45	153±21	3.80±0.05	0.27±0.04
2009	1870±107	621±37	167±18	3.90±0.08	0.25±0.02
2010	1720±95	575±44	180±29	3.85±0.06	0.25±0.03
x	1773±112	597±42	167±22.6	3.85±0.063	0.26±0.03
Cv%	4.73	3.86	8.01	1.29	4.49

*Rezultati su srednja vrijednost od 3 mjerenja ± SD (standardna devijacija)

Vino varijante V-2 ima veći sadržaj ukupnih polifenola i antocijana, kao i veći intenzitet boje, što je u saglasnosti sa drugim istraživanjima (*Munoz i sar.*2004, *Cabeza i sar.* 2009). Enzimi kataliziraju mnoge reakcije biotransformacije u predfermentativnoj fazi, u toku alkoholne fermentacije i postfermentativne faze i doprinose intenzivnijoj ekstrakciji polifenolnih materija iz grožđa u vino.

Rezultati izvršene degustacione ocjene ispitivanih vina prikazani su u Tabeli 5.

Tab.5. Degustacione ocjene vina
Wine tasting marks

Godina berbe/ Year of harvest	Boja/ Color	Bistrina/ Clarity	Miris/Odor			Ukus/ Taste			Ukupno/Total		
			min	max	x	min	max	x	min	max	x
V-1											
2008	2	2	2.4	2.8	2.6	10.3	10.7	10.5	16.7	17.5	17.1
2009	2	2	2.5	2.9	2.7	10.4	10.8	10.6	16.9	17.7	17.3
2010	2	2	2.3	2.9	2.6	10.3	10.8	10.55	16.6	17.7	17.15
x	2	2	2.4	2.9	2.6	10.3	10.8	10.55	16.7	17.6	17.2
V-2											
2008	2	2	2.4	2.9	2.7	10.3	10.8	10.55	16.7	17.7	17.2
2009	2	2	2.5	3	2.8	10.4	10.9	10.65	16.9	17.9	17.4
2010	2	2	2.4	2.9	2.7	10.3	10.9	10.6	16.7	17.8	17.3
x	2	2	2.4	2.9	2.7	10.3	10.86	10.6	16.8	17.8	17.3

Na osnovu senzornih ocjena prikazanih u Tab. 5, može se zaključiti da upotreba enzima pozitivno utiče na senzorna svojstva vina. Dodatak enzima pomaže stabilizaciji boje i tijela formiranjem polimerizovanih pigmenta.

Vino dobijeno dodatkom enzima ima degustacionu ocjenu veću od kontrolnog vina za 0.1 bod.

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da enzim značajno utiče na polifenolni sastav i senzorna svojstva vina u odnosu na kontrolno vino, gdje je u kljuk dodat samo selekcionisani kvasac, dok na osnovni hemijski sastav nije imao bitan uticaj. Evidentan je veći sadržaj ukupnih polifenola, antocijana, flavan 3-ola, jači intenzitet i nijansa boje vina u vinu, tj. bolja ekstrakcija polifenolnih materija, dodatkom enzima. Upotreba enzima omogućava bolja senzorna svojstva vina, odnosno poboljšanje intenziteta boje, mirisa i ukusa vina. Dakle, možemo zaključiti da je enzim kao enološko sredstvo opravdao svoju ulogu u proizvodnji crvenog vina Vranac.

Literatura

1. *Bautista-Ortín A.B., Martínez-Cutillas A., Ros-García J. M., López-Roca J. M., Gómez-Plaza E.* (2005): Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins, *International Journal of Food Science & Technology*, 40 (8):867 – 878.
2. *Berg, H. W.* (1959): The effects of several fungal pectic enzyme preparations on grape musts and wines, *Am. J. Enol. Vitic.*, 10: 130–134.
3. *Cabeza M.S, Merin M. G., Martín M.C., Sabaté D.C., Audisio M.C. and Morata de Ambrosini V.I.* (2009): The Effect of a Pectinase-Surfactin Preparation on Extraction of Pigments and Total Polyphenol from Malbec Grape Skins , *Am. J. Enol. Vitic.* 60(4):477-483.
4. *Daničić M.* (1988): Tehnologija vina – praktikum, Beograd. Wine technology-handbook, Belgrade.
5. *Doco, T., Williams, P., Cheynier, V.* (2007): Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition, *J. Agric. Food Chem.*, 55: 6643–6649.
6. *Ducasse M.-A., Canal-Llauberes R.-M., Marie de Lumley, Williams P., Souquet J.-M., Fulcrand H., Doco T. and Cheynier V.*, (2010): Effect of macerating enzyme treatment on the polyphenol and polysaccharide composition of red wines, *Food Chemistry*, 118(2): 369-376.
7. *García-Marino M., Hernández-Hierro J.M., Rivas-Gonzalo J.C. and Escribano-Bailón M.T.* (2010): Colour and pigment composition of red wines obtained from co-maceration of Tempranillo and Graciano varieties, *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2): 134-142.

8. *Gil J. V. and Valle's S.* (2001): Effect of Macerating Enzymes on Red Wine Aroma at Laboratory Scale: Exogenous Addition or Expression by Transgenic Wine Yeasts, *J. Agric. Food Chem.*, 49 (11): 5515 - 5523.
9. *Guadalupe Z., Palacios A. and Ayestarán B.* (2007): Maceration Enzymes and Mannoproteins: A Possible Strategy To Increase Colloidal Stability and Color Extraction in Red Wines, *J. Agric. Food Chem.*, 55(12):4854-62.
10. *Ivanova V.* (2009): Development of methods for identification and quantification of phenolic compounds in wine and grape applying spectrophotometry, liquid chromatography and mass spectrometry, PhD Thesis, University "Ss Cyril and Methodius", Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Skopje. R. Macedonia
11. *Ivanova V., Stefova M., Chinnici F.* (2010): Determination of the polyphenolic contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(1): 45-59.
12. *Jackson R. S.* (2008), *Wine Science, Principles and Applications*, Third Edition, Academic press.
13. *Kelebek H., Canbas A., Turgut C. and Selli S.* (2007): Improvement of anthocyanin content in the cv. Öküzgözü wines by using pectolytic enzymes, *Food Chemistry*, 105(1): 334-339.
14. *Main G. L. and Morris J. R.* (2007): Effect of Macerating Enzymes and Postfermentation Grape-Seed Tannin on the Color of Cynthiana Wines, *Am. J. Enol. Vitic.* 58(3):365-372.
15. *Muñ O., Sepúlveda M. and Schwartz M.* (2004): Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from chilean wine, *Food Chemistry*, 87 (4):487-490.
16. *Munoz O., Sepulveda M., Schwartz M.* 2004. Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from chilean wine. *Food Chemistry*, 87: 487-490.
17. *O.I.V.* (2008): *Compendium of international methods of wine and must analysis - Chromatic Characteristics*. O.I.V., Paris.
18. *Plaza E.* (2005): Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 40: 867-878.
19. *Revilla I. and González-San José M.L.* (2003): Compositional changes during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: low molecular-weight phenols and flavan-3-ol derivative levels, *Food Chemistry*, 80(2):205-214.
20. *Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M.* (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 299:152-178.