

**Dr Dubravka Premužić,**  
Poljoprivredni fakultet, Zagreb  
**Inž Jelena Domínez,**  
Prehrambeno-tehnološki institut, Zagreb

### AMINOKISELINE U MOŠTU I VINU GRAŠEVINE, BIJELOG BURGUNDCA I TRAMINCA

Dušični spojevi dolaze u moštu i vinu u količinama koje se kreću od stotinu mg do nekoliko grama na litru (Dimotakis (1), Nilov i Skurihin (2), Hennig (3), Ribéreau — Gayon i Peynaud (4), a uključuju proteine, polipeptide, aminokiseline, amide i amonijeve soli. Ti su spojevi od višestruke važnosti u enologiji. Oni omogućuju razvoj kvasaca potrebnih za fermentaciju kao i bakterija koje vrše biološku degradaciju jabučne kiseline, no istovremeno potiču i razvoj mikroorganizama koji uzrokuju različite nepoželjne promjene u vinu. Uz to dušični spojevi sudjeluju u procesima dozrijevanja i stabilizacije vina.

Među dušičnim spojevima od posebne su važnosti aminokiseline. Osim što služe za ishranu mikroorganizama, one utječu na metabolizam kvasaca koji stvaraju SO<sub>2</sub> u fermentaciji (metionin, cistein) Eschenbruch (5), doprinose dijelom razvoju arome i bukea vina, te sudjeluju u procesima neencimatskog posmedivanja vina tvoreći melanoidne spojeve interakcijom sa šećerima.

Polazeći od važnosti dušičnih spojeva u vinu, kao i činjenice da raspolažemo s relativno malo podataka o kretanju pojedinih aminokiselina u moštovima i vinima naših područja, proveli smo preliminarna ispitivanja aminokiselinskog sastava mošta i mladog vina triju kvalitetnih sorata iste provenijence.

Svrha istraživanja bila je ustanoviti razlike u količini pojedinih aminokiselina među moštovima ispitivanih sorata, moguća kolebanja zavisna o godini berbe, kao i količine aminokiselina prisutnih u mladim vinima proizvedenim u poluindustrijskim uvjetima u vrijeme uobičajenog otakanja vina s drožđa.

#### MATERIJAL I METODIKA

Ispitivanja su provedena u moštovima dobivenim od zdravog grožđa Graševine i Bijelog burgundca berbe 1970, Graševine, Bijelog burgundca i Traminca berbe 1972, te u moštu Graševine berbe 1970, dobivenom od grožđa zaraženog Botrytis cinereom i drugim plijesnima, provenijence pokusno — nastavnog dobra »Jazbina« Poljoprivrednog fakulteta u Zagrebu. Grožđe je muljano bez odvajanja peteljki i prešano na hidrauličnoj preši. Moštevci su taloženi 12 sati na temperaturi 20°C, bez sumporenja. Uzroci za analize uzimani su nakon taloženja a prije cijepjenja kvascima.

Količina amonikiselina ispitana je i u mladim vinima Graševine, Traminca i Bijelog burgundca berbe 1972. godine. Moštevci sve tri sorte cijepljeni su

nakon taloženja s dvije vrste kvasaca i to *Saccharomyces vini* soj 62 i *Saccharomyces carlsbergensis* soj 25. Na 1 litru mošta dodano je  $3 \times 10^9$  stanica kvasca prethodno razmnoženih u fermentoru na podlozi mošta. Nakon cijepjenja svi su moštovi rastočeni u demižone po 50 litara, zatvoreni vrelnjača i smješteni u podrum na vrenje.

Tok fermentacije praćen je svakodnevnim mjerenjem refraktometarske vrijednosti i temperature. Nakon završenog vrenja i prirodnog taloženja koje je uslijedilo u periodu od 45 dana, izvršen je prvi pretok vina kojom su prilikom provedene kemijske analize mladog vina uključujući i određivanje aminokiselina.

Analize osnovnih sastojaka mošta i vina provedene su postupcima uobičajenim u analizi vina, ukupnog dušika metodom prema Kjeldahlu dok je analiza aminokiselina provedena metodom prema Spackmanu (6) na aminoanalizatoru Beckman tip Unichrom.

## REZULTATI I DISKUSIJA

### Moštovi

U tabeli 1 prikazan je osnovni sastav ispitanih moštova. S vinarskog stajališta berbe su zbog nedovoljnog dozrijevanja grožđa, bile loše, što je vidljivo

Tabela 1 — Osnovni sastav moštova  
Table 1 — Analysis of musts

Berba — godina Vintage — Year	Graševina Wälschriesling			Bijeli burgundac Pinot white		Traminac Traminer
	1970.	1972.	1970.(1)	1970.	1972.	1972.
Refraktometarska vrijednost Refractometer reading	18,5	19	20,25	21	20,75	22,50
Ukupna kiselina kao vinska g/l Total acids as tartaric	9,36	12,36	9,0	11	13,47	11,09
Kromatografija kiselina (2)V (T) Chromatography of acids J (M)	***	****	***	**	***	****
ukupni dušik mg/l	408	391	342	856	667	734

(1) dobiveno od zaraženog grožđa  
produced of infected grapes

(2) V = vinska kiselina  
T = tartaric acid  
J = jabučna kiselina  
M = malic acid

i po velikoj količini ukupnih kiselina a naročito po zastupljenosti jabučne kiseline. Treba istaći da je berba 1972. godine bila slabija nego berba 1970. godine. U obje godine izvršeno je popravljjanje količine šećera u moštu dodatkom 2% saharoze.

U tabeli 2 izneseni su podaci o količini aminokiselina prisutnih u moštovima. Rezultati pokazuju da postoje izrazite razlike u količini ukupnih aminokiselina između moštova triju ispitanih sorata. Unutar iste sorte, zavisno o godini berbe, iako nisu zabilježena kolebanja količine ukupnih aminokiselina, dobivene su prilično izražene razlike u količini nekih aminokiselina.

Tabela 2 — Aminokiselinski sastav moštova

Table 2 — Free amino acids in musts mg/l

Berba — godina Vintage — Year	Graševina		Bijeli burgundac		Traminac	
	Wälschriesling		Pinot white		Traminer	
	1970.	1972.	1970.(1)	1970.	1972.	1972.
1. Prolin	128,1	52,9	166,0	1505,9	994,5	394,2
2. Arginin	524,6	554,9	669,0	531,0	759,4	1202,8
3. Glutaminska kiselina	128,3	174,0	124,8	233,9	617,9	252,0
4. Serin	99,8	154,0	94,7	437,2	546,0	257,0
5. Alanin	159,5	132,5	161,2	436,6	347,9	218,3
6. Treonin	79,8	79,1	79,2	234,4	213,8	165,1
7. Fenilalanin	45,3	42,5	50,2	98,1	88,2	71,6
8. Valin	36,7	38,8	38,4	87,2	78,7	67,6
9. Asparaginska kiselina	62,4	38,4	47,2	83,1	74,4	48,0
10. Leucin	42,8	43,2	41,6	73,7	74,2	75,4
11. Histidin	32,7	34,6	31,5	73,8	58,6	84,2
12. Izoleucin	33,4	33,4	34,0	66,9	59,6	62,3
13. Tirozin	16,3	14,0	16,0	32,3	25,0	19,9
14. Glicin	4,7	5,7	4,1	11,8	11,0	7,5
15. Metionin	6,6	4,8	6,6	22,0	11,0	15,4
16. Lizin	8,6	7,5	10,6	13,7	9,5	24,1
17. Cistin	+	+	+	+	+	+
18. NH <sub>3</sub>		34,6			53,6	27,8
U k u p n o — total	1409,6	1407,0	1575,2	3941,6	3969,7	2965,0

(1) dobiveno od zaraženog grožđa  
produced of infected grapes

Najjače zastupljena aminokiselina u moštu Graševine bio je arginin s preko 500 mg/l, čija je količina jače varirala zavisno o zdravstvenom stanju grožđa nego o godini dobivanja.

U količinama od 100 do 200 mg/l kretale su se aminokiseline glutaminska, serin i alanin, uz jače izraženo variranje zavisno o godini berbe nego o zdravstvenom stanju grožđa.

Podaci dobiveni za prolin ukazuju na jako variranje te aminokiseline zavisno o godini berbe i zdravstvenom stanju grožđa. U granicama od 25 do 80 mg/l bile su zastupljene aminokiseline treonin, leucin, fenilalanin, histidin, izoleucin i asparaginska kiselina. Osim posljednje koja je varirala zavisno i o godini u sva tri ispitana uzroka Graševine u približno istim količinama.

Ispod 25 mg/l kretale su se količine tirozina, lizina, glicina i metionina.

U moštu Burgundca bijelog najzastupljenija aminokiselina bio je prolin. Zanimljivo je napomenuti da je količina prolina u Burgundcu kao i u Graševini jako varirala zavisno o godini, s time da je u obje sorte u 1970. godini nađena mnogo veća količina nego u 1972. godini.

U velikim količinama (300 do 700 mg/l) bili su zastupljeni arginin, glutaminska, serin i alanin. Količina treonina kretala se oko 230 mg/l.

U granicama od 50 do 100 mg/l nađene su slijedeće aminokiseline: fenilalanin, valin, asparaginska kiselina, leucin i izoleucin, uz vrlo slabo izraženo variranje obzirom na godinu berbe.

Količine triozina, glicina, metionina i lizina kretale su se u granicama od 9 do 35 mg/l.

U moštu Traminca najjače zastupljena aminokiselina bio je arginin. Za tim slijede prolin, serin, glutaminska kiselina, alanin i treonin s vrijednostima od 165 do 394 mg/l.

Ispod 100 mg/l u granicama od 50 do 85 mg/l kretali su se histidin, leucin, fenilalanin, valin, izoleucin i asparaginska kiselina.

Lizin, tirozin, metionin i glicin nađeni su u količinama manjim od 25 mg/l.

Sumirajući dobivene rezultate može se reći da postoje znatne razlike u količini ukupnih kao i pojedinih aminokiselina između tri ispitane sorte. Može se međutim zapaziti da postoje i određene pravilnosti u zastupljenosti pojedinih aminokiselina.

Kada bi se ispitivane sorte svrstale po količini ukupnih aminokiselina redoslijed bi bio Bijeli burgundac, Traminac, Graševina, posljednja s gotovo dvostruko manjom količinom nego prve dvije. Pokuša li se grupirati pojedine aminokiseline prema zastupljenosti u moštovima moglo bi ih se svrstati u tri grupe. Najzastupljenije aminokiseline u sva tri mošta bile su arginin, prolin, glutaminska kiselina, alanin, serin i treonin.

U znatno manjim količinama nađeni su fenilalanin, valin, asparaginska kiselina, leucin, histidin i izoleucin.

U vrlo malim količinama bili su prisutni tirozin, metionin, lizin i glicin.

Na osnovi rezultata ispitivanja količine aminokiselina u grožđu, Kliewer (7) razlikuje sorte s dominantnim prolinom, dominantnim argininom i intermedijarne. U sorte s dominantnim argininom ubraja uz ostale mirisni Traminac, što se podudara i s našim rezultatima, dok se u slučaju Burgundca bijelog kojeg Kliewer svrstava u sorte s približno jednakim količinama prolina i arginina, naši podaci razlikuju. Prateći kretanje proli-

na i arginina u tijeku dozrijevanja grožđa, Kliewer je ustanovio da koncentracija arginina raste u početku ali pada u periodu pune zrelosti grožđa. Količina prolina se nasuprot tome naglo povećava u kasnijim stadijima dozrijevanja. Prema našim rezultatima u godini s nešto povoljnijim dozrijevanjem grožđa — berba 1970. — količine prolina u Graševini i Burgundcu bijelom bile su znatno veće nego u 1972. godini, dok su količine arginina manje, što bi bilo u skladu sa zapažanjima Kliewera.

Amanokiseline serin, glutaminska kiselina, treonin i alanin zastupljene su u grožđu odnosno moštu prema rezultatima Kliewera (7), Annellia (8) i nekih drugih autora u količinama i do nekoliko stotina mg/l, dok su ostale prisutne u znatno manjim količinama, što je u skladu s iznesenim rezultatima naših ispitivanja.

Na aminokiselinski sastav grožđa i mošta utječe veliki broj faktora kao što su sorta, stupanj zrelosti, primjenjena agrotehnika, ekološki uvjeti kao i način dobivanja mošta, što otežava uspoređivanje rezultata dobivenih od pojedinih autora.

Tabela 3 — Osnovni sastav vina  
Table 3 — Analysis of wines

	Graševina		Bijeli burgundac		Traminac	
	Wälschriesling A(1)	B(2)	Pinot white A(1)	B(2)	Traminer A(1)	B(2)
Alkohol vol. % Alcohol vol. %	11,21	11,34	12,17	11,95	13,35	13,48
Ukupna kiselina kao vinska g/l Total acid as tartaric	10,80	10,94	10,93	11,67	9,15	9,81
Hlapiva kiselina kao octena g/l Volatil acid as acetic	0,39	0,44	0,43	0,46	0,39	0,40
Kromatografija kiselina V (T)	***	***	**	**	*	*
Chromatography of acids. J (M)	*****	*****	*****	*****	*****	*****
Ukupni dušik mg/l Total nitrogen	248	286	462	491	477	491

(1) Vrsta kvasca: *Saccharomyces carlsbergensis* W — 25

(2) Yeast culture: *Saccharomyces vini* 62,41

U Tramincu i Graševini u kojima je najzastupljenija aminokiselina u moštu bio arginin zapažaju se slične tendencije u kretanju arginina i prolina u vinu nakon fermentacije. U oba je vina i uz obje vrste kvasaca zabilježen porast količine prolina, dok je arginin porastao uz *Saccharomyces carlsbergensis*, a lagano se smanjio uz *Saccharomyces vini*.

U Burgundcu bijelom obje su se aminokiseline i prolin i arginin smanjile prijelazom mošta u vino. Smanjenje je bilo jače izraženo uz *Saccharomyces carlsbergensis* nego uz *Saccharomyces vini*. Serin se u svim ispitivanim vinima smanjio u odnosu na prvobitne količine u moštu. Nije bilo nikakve pravilnosti u promjenama alanina ni zavisno o sorti niti zavisno o kvascu. Aminokiseline treonin, leucin, fenilalanin, valin, histidin i izoleucin smanjile su se u vinu Graševina za 70 — 90%, Araminca 43 — 87% i Burgundca bijelog za 30 — 90%. Tirozin i metionin smanjili su se u vinu Graševine za 13 — 45%, Araminca 8 — 53%, a Burgundca bijelog od 17 — 55%. U vinu Graševine i Burgundca smanjila se količina asparaginske kiseline od 8,5 do 45% dok je u Tramincu zabilježen lagani porast. U sva tri vina uočen je porast količine lizina i glicina.

U literaturi se navodi da su u vinu dominantni prolin i alanin — Bidan i André (9), Dimotakis (1), Daničić (10), prolin — Rodopulo (11), Anelli (8), odnosno prolin i arginin — Anelli (8). Prema rezultatima navedenih autora te Kiškovskog (12) u nešto većim količinama zastupljeni su histidin, arginin, asparaginska kiselina, lizin, dok u vrlo malim količinama dolaze valin, cistin, triozin, treonin, metionin, fenilalanin i triptofan.

Prema navodima iz literature u toku fermentacije znatno se smanjuju količine alanina, asparaginske kiseline, glutaminske kiseline, glicina, valina, leucina, izoleucina i arginina Lafon-Lafourcade (13), Peynaud (14). Isti autori te Bidan i André (9) i Daničić (10) navode da se količine aminokiselina arginina, histidina, lizina i asparaginske kiseline mogu i povećati u odnosu na početno stanje u moštu. Većina autora smatra da kvasci ne metaboliziraju prolin — Ough i Stashak (15), Bidan (9) —, drugi drže da ga djelomično mogu metabolizirati, a neki Lafon-Lafourcade (13) su mišljenja da se koncentracija prolina može povećati uslijed sinteze od strane kvašćeve stanice. Prema rezultatima Anellia (8) zavisno o sorti vina i vrsti kvasca kojim je provedena fermentacija dobiveno je smanjenje količine prolina od 7 do 98% u odnosu na količine u moštu.

Usporede li se naši rezultati s rezultatima navedenih autora vide se, da su u našim ispitivanjima smanjenja količine aminokiselina prelazom mošta u vino bila manja. Razlozi tome mogli bi biti različiti uvjeti rada od načina postavljanja pokusa, pripreme i vremena uzimanja uzroka do metoda provođenja analiza.

Budući da aminokiselinski sastav vina i kvalitetni i kvantitativni zavisi o velikom broju činilaca, neophodna su daljnja sistemska ispitivanja kako bi se problematika što cjelovitije obuhvatila.

Istraživanja su dijelom bila financirana sredstvima koje je dalo Ministarstvo poljoprivrede SAD, službe za poljoprivredna istraživanja, po ovlaštenju PL 480

## I Z V O D

Provedena su ispitivanja aminokiselinskog sastava moštova i vina triju kvalitetnih sorata grožđa Graševine, Traminca i Bijelog burdudca provenijence sjeverozapadne Hrvatske.

Rezultati ukazuju na znatne razlike kako u količini ukupnih tako i pojedinih aminokiselina u moštovima ispitivanih sorata. Dominantna aminokiselina u Graševini i Traminču bio je aginin, a u Bijelom burdudcu prolin. Uz njih su bile jače zastupljene amoniokiseline: glutaminska kiselina, alanin, serin i treonin. U znatno manjim količinama nađeni su fenilalanin, valin, asparaginska kiselina, leucin, histidin i izoleucin. U vrlo malim količinama bili su prisutni tirozin, metionin, lizin i glicin.

Analize aminokiselina u vinima provedene su u vrijeme 1-og pretoka vina. Najzastupljenije aminokiseline u vinu Bijelog burgundca bile su prolin uz arginin, alanin i glutaminsku kiselinu; u Traminču arginin uz prolin, alanin i glutaminsku kiselinu i prolin.

U većim količinama nalazili su se serin, treonin, lizin i asparaginska kiselina, dok su aminokiseline fenilalanin, valin, leucin, histidin, izoleucin, tirozin, glicin i metionin bile prisutne u vrlo malim količinama.

Prijelazom mošta u vino smanjila se ukupna količina aminokiselina. Smanjenje je bilo različito u pojedinim vinima i kretalo se od 10% u Traminču, do 40 odnosno 50% u Graševini i Bijelom burguncu.

## L I T E R A T U R A

1. Dimotakis F. A. — Determination of free amino acids in greek wines Am. J. Enol. Vitic. 9, 2 (1958) 79—85
2. Nilov I.V. i Skurihin — Himija vinodelija i konjačkoga proizvodstva, Moskva 1960.
3. Hennig K. i Flintje S. M. — Investigations in the paper Chromatog — raphy sugar, sugar acids and amino acids of wine., Wein-wiss. 8 (1954) 121 — 125, 129 — 140.
4. Ribéreau-Gayon i Peynaud — Analyse et controle des vins Paris 1958.
5. Eschenbruch R. — Der Einfluss von Methionin und Cystein auf die SO<sub>2</sub> Bildung einiger Stamme von Sacch. cerevisise bei der Vergärung von Traubenmost, Vitis 11, 1 (1972) 53 — 57
6. Spackman D.H., Stein W. H. — Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins (An improved system.) Anal. Chem. 30 (1958) 1185
7. Kliewer W.M. — Changes in the concentration of free amino acids in grape berries during maturation. Am. J. Enol. Vitic. 19, 3 (1968) 166 — 174

8. Anelli G., Lotti G., Lepidi A.A. — Gli aminoacidi liberi nei vini prodotti con lieviti diversi, *Industrie agrarie* X (1972) 205 — 210
9. Bidan P., Andre L. — Sur la composition en acide amine de quelques vins, *Am. techn. agric.* 4 (1958)
10. Daničić M., Vučetić J. — Prilog poznavanju sadržaja slobodnih aminokiselina u širi i njihovim promenama u toku alkoholne fermentacije, *Vinogr. i vin.* IV, 11 (1971) 5—11
11. Rodopulo A.K., Pisarnickij A.F. — Količestvenoe opredelenie aminokislot v šampanjskom aminokislотноm analizatorom, *Vinod. i vinogr. SSSR* 1 (1968)
12. Kiškovskij Z.N. — Aminokislотноj sastav nekatornih vin., *Vinod. i vinogr.* 1 (1963)
13. Lafon — Lafourcade S., Peynaud E. — Composition azoté des vins en fonction des conditions de vinification *Am. techn. agric.* 10 (1963)
14. Ough C.S., Stashak R.M. — Further studies on proline in grapes and wines, *Ref. on 24 ann meeting Am. enolog. cit. Wines and Vins* 7 (1973) 30.

#### Summary

The amino acids content of musts and wines of three grape varieties e.g. Wälschriesling, Pinot white and Traminer has been investigated.

Great differences were found between the varieties in the content of total as well as individual amino acids in musts. Arginine was the predominant amino acid in musts of Wälschriesling and Traminer, and proline in the must of Pinot white.

In larger quantities were found amino acids: glutamic acid, alanine, serine and threonine.

In smaller amounts were present phenylalanine, valine, aspartic acid, leucine, histidine and isoleucine, while tyrosine, methionine, lysine and glycine were found in very small quantities.

Wines were analyzed after the first racking of wines. Arginine, proline, alanine and glutamic acid were found in large amounts.

In smaller quantities were found: serine, threonine, lysine and aspartic acid, and in a very small amounts were present phenylalanine, valine, leucine, histidine, isoleucine, tyrosine, glycine and methionine.

During conversion of must to wine by alcoholic fermentation, the quantity of total amino acids decreased. The decrease ranged from 10 per cent in Traminer to 40 respectively 50 per cent in Wälschriesling and Pinot white.