

Efecto varietal sobre el contenido de glutatión en mostos y vinos blancos

Juana Martínez^a, Eva López y Enrique García-Escudero

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino- ICVV (Universidad de La Rioja, CSIC, Gobierno de La Rioja). 26071 Logroño (La Rioja), España

Resumen. El glutatión desempeña un papel fundamental en la prevención de las oxidaciones en mostos y vinos. Se origina durante la maduración de la uva, y su contenido está influenciado por numerosos factores, entre los que se encuentra la variedad. Asimismo, manifiesta efectos beneficiosos sobre la salud humana, por lo que está siendo objeto de numerosos estudios en los últimos años. En este trabajo se analizó el contenido de glutatión en mostos y vinos de las variedades Tempranillo blanco, Maturana blanca, Turruntés, Garnacha blanca, Malvasía riojana y Viura en la D.O.Ca. Rioja (España), durante las campañas 2012 y 2013. Su determinación analítica se efectuó por HPLC mediante derivatización automática en precolumna con OPA. No se observaron diferencias varietales en el contenido de glutatión en los mostos, con valores medios más elevados en Tempranillo blanco y más bajos en Garnacha blanca. En los vinos se produjo un notable incremento de los niveles de glutatión con respecto a los mostos, y el efecto varietal fue significativo, destacando Tempranillo blanco y Viura por su elevada concentración y Malvasía por ser la más baja. Las elevadas concentraciones de este compuesto en Tempranillo blanco sugieren que esta variedad tienen un buen potencial antioxidante.

Introducción

El glutatión es un compuesto que desempeña un papel fundamental en la prevención de los procesos oxidativos de los mostos y vinos debido a su elevada actividad antioxidante [1]. Se trata de un tripéptido compuesto de tres aminoácidos (ácido glutámico, cisteína y glicina), que fue cuantificado por primera vez en la uva en 1989 [2], donde se encuentra principalmente en forma reducida. Los niveles de glutatión presentes en las bayas están influenciados por numerosos factores (variedad, localización, condiciones ambientales, añada, prácticas culturales...). Se origina durante la maduración de la uva, incrementándose significativamente después del envero [3]. Su acumulación en la baya es paralela a la de sólidos solubles hasta que se alcanzan los 16° Brix, y a partir de este momento se mantiene estable. Asimismo, el glutatión presente en la uva está estrechamente relacionado con el nivel de nutrición nitrogenada de la viña, habiéndose observado valores más bajos en el caso de viñedos con deficiencia en nitrógeno [4]. En el mosto, su contenido es muy variable y puede estar influenciado por numerosos factores, como son la exposición al oxígeno, la actividad tirosinasa, el tiempo de maceración prefermentativa, el prensado... [5]. Los resultados existentes acerca de su evolución durante la fermentación alcohólica son contradictorios. Algunos autores [6–8] observaron un incremento, mientras que en otros casos este compuesto disminuyó [5,7]. El glutatión está implicado en algunos mecanismos de respuesta al estrés en *Saccharomyces cerevisiae*, pudiendo ser asimilado o excretado durante la fermentación alcohólica [9]. El contenido de glutatión después de la fermentación puede depender de la cepa de

levadura utilizada [7], aunque las diferencias observadas en algunos trabajos fueron insignificantes [10]. Durante el proceso de conservación del vino, la concentración de glutatión generalmente disminuye, pudiendo verse afectada de forma notable por la exposición al oxígeno durante el embotellado [11].

En los mostos, el glutatión juega un papel crucial limitando los procesos oxidativos de tipo enzimático. Después del prensado, las polifenoloxidasas inician las reacciones de oxidación de los ácidos hidroxicinámicos y dan lugar a la formación de las correspondientes o-quinonas. El glutatión reacciona con el ácido caftárico generando un compuesto incoloro denominado GRP (ácido 2-S-glutathionil caftárico), que impide las posteriores reacciones de pardeamiento enzimático de dicho ácido [12], las cuales pueden conducir al deterioro de la calidad final del mosto y del vino. La ratio ácidos hidroxicinámicos/glutathion puede considerarse un buen indicador de la susceptibilidad de los mostos a la oxidación [13].

El glutatión ejerce un efecto protector sobre el aroma del vino, preservando de la oxidación a algunos compuestos volátiles con gran impacto sensorial. La adición de levaduras inactivas ricas en glutatión en los vinos durante el embotellado, puede prevenir el incremento del color amarillo y evitar la desaparición de aromas varietales (4-mercapto-4-metil-2-pentanona, 3-mercaptohexan-1-ol, linalol) y ésteres procedentes de la fermentación (acetato de isoamilol, hexanoato de etilo, octanoato de etilo) [14]. Este compuesto manifiesta también efectos beneficiosos sobre la salud humana, debido a su actividad antioxidante, inmunitaria y desintoxicante [15], por lo que es considerado una potente, versátil e importante molécula autogeneradora de defensas.

^a e-mail: jmartinezg@larioja.org

En los últimos años el glutatión ha sido objeto de numerosos estudios, aunque hasta el momento se desconocen muchos aspectos de su comportamiento y evolución en los mostos y vinos [1].

El objetivo de este trabajo fue la determinación del contenido en glutatión en mostos y vinos de diferentes variedades blancas cultivadas en la D.O.Ca. Rioja (España).

Material y métodos

El estudio se ha llevado a cabo, durante las campañas 2012 y 2013, en un viñedo experimental localizado en Logroño (La Rioja; España), que se implantó en 2002, conducido en espaldera, doble cordón Royat, con un diseño estadístico de tres repeticiones con 100 cepas por variedad. Las variedades estudiadas, todas ellas autorizadas en la Denominación de Origen Calificada (D.O.Ca.) Rioja, fueron las siguientes:

- **Tempranillo blanco.** Derivada de Tempranillo tinto como consecuencia de una mutación natural, que se detectó en un viñedo de La Rioja (España) en 1988.
- **Maturana blanca.** Cultivada en la zona en otros momentos y recientemente recuperada a partir del material vegetal existente en la colección ampelográfica del CIDA de La Rioja (España).
- **Turruntés.** Presente en la zona antiguamente y recuperada en la actualidad en viñedos viejos. Sinonimia confirmada, mediante microsátélites, de la variedad Albillo mayor.
- **Garnacha blanca.** Con difusión en diferentes regiones del noreste de España, pero con escasa presencia en el viñedo riojano, si bien de gran interés por su calidad en los últimos años.
- **Malvasía riojana.** Con referencias de su cultivo en la zona desde antiguo, pero escasa superficie en la actualidad. Sinonimia confirmada, mediante microsátélites, de la variedad Alarije, muy extendida por el centro de España.
- **Viura.** Variedad blanca más abundante en la zona, muy extendida por todo el Valle del Ebro. Sinonimia de Macabeo.

La vendimia se realizó de forma manual en el momento que se entendió adecuado de madurez, excepto en la variedad Malvasía, que se recolectó antes de alcanzar un grado alcohólico adecuado debido a su elevada sensibilidad a *Botrytis cinerea* (Tabla 1).

La vinificación se llevó a cabo en la bodega experimental del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario de La Rioja. El mosto obtenido mediante estrujado sin despalillado y prensado suave, se desfangó de forma estática a baja temperatura (10 °C) con adición de enzimas pectolíticas y sulfitado (60 mg/L). La fermentación alcohólica se desarrolló en depósitos de 100 L mediante la inoculación de levaduras comerciales (Zymaflore X16, de Laffort), a 20 °C de temperatura. Una vez concluida dicha fermentación, los vinos se sulfitaron con 40 mg/L de SO₂ y se conservaron a 5 °C durante un mes antes del embotellado.

En los mostos y vinos elaborados se analizaron parámetros básicos como: grado alcohólico (% v/v), pH,

Tabla 1. Grado alcohólico probable (% v/v) en mostos de variedades blancas. Años 2012 y 2013. Media \pm desviación estándar (n = 2).

Variedad	Mostos 2012	Mostos 2013
Tempranillo blanco	12.3 \pm 0.19	13.6 \pm 0.64
Maturana blanca	12.6 \pm 0.43	12.7 \pm 0.05
Turruntés	12.1 \pm 0.05	11.5 \pm 0.00
Garnacha blanca	13.0 \pm 0.20	12.2 \pm 0.00
Malvasía riojana	11.2 \pm 1.11	10.4 \pm 0.57
Viura	12.2 \pm 0.24	12.6 \pm 0.43

acidez total (g/l ácido tartárico), D.O. 420 nm, D.O. 320 nm e IPT 280 nm.

La determinación analítica del contenido de glutatión reducido en los mostos desfangados y en los vinos, se realizó con un equipo de HPLC Agilent 1100, mediante derivatización automática en precolumna con OPA. La separación se llevó a cabo en una columna Hypersil ODS (250 \times 4.0 mm 5 μ m). Los eluyentes empleados fueron A: tampón acetato de sodio 75 mM, 0.018% trietilamina (pH 6.9)+0.3%tetrahidrofurano y B: metanol/acetronitrilo/agua (45/45/10). La detección se efectuó por fluorescencia (λ excitación = 340 nm y λ emisión= 450 nm).

Para el estudio estadístico de los resultados se aplicó el análisis de varianza ANOVA, mediante el programa estadístico SPSS versión 15.0 (*: p < 0.05; **: p < 0.01; y n.s.: no significativo). En caso de existir diferencias significativas, p < 0.05, se utilizó el test de Tukey para la separación de medias.

Resultados y discusión

Las concentraciones de glutatión obtenidas en los mostos desfangados de las diferentes variedades se muestran en la Tabla 2. Como puede observarse, no se encontraron diferencias significativas entre variedades en ninguna de las campañas consideradas. No obstante, los valores medios fueron más elevados en la variedad Tempranillo blanco, oscilando entre 5.33 mg/L en 2012 y 10.4 mg/L en 2013. Los mostos de la variedad Viura presentaron contenidos más próximos a Tempranillo blanco que el resto, entre 4.62 mg/L y 8.67 mg/L. Los valores de glutatión obtenidos en los mostos se situaron en el rango de los indicados por diferentes autores, entre cero y 100 mg/L [2], 1.1 y 71 mg/L [5] y 1.1 y 42.3 mg/L [16].

La influencia de la añada únicamente fue significativa en los mostos de la variedad Turruntés, aunque en todos los casos se obtuvieron concentraciones medias de glutatión más elevadas en 2013 que en 2012. Estas diferencias podrían estar relacionadas con las condiciones climatológicas de cada una de las campañas estudiadas. La añada 2013 se caracterizó por una mayor cantidad de precipitaciones durante el período previo al invierno, que alcanzaron los 85 mm durante los meses de junio y julio. Por el contrario, 2012 fue un año con menor abundancia de

Tabla 2. Contenido en glutatión (ppm) en mostos de variedades blancas. Años 2012 y 2013. Media \pm desviación estándar (n = 2).

Variedad	Mostos 2012	Mostos 2013	g.s.
Tempranillo blanco	5.33 \pm 1.81	10.4 \pm 1.98	n.s.
Maturana blanca	2.65 \pm 0.77	4.02 \pm 0.91	n.s.
Turruntés	0.570 \pm 0.28 b	5.11 \pm 1.24 a	*
Garnacha blanca	1.22 \pm 0.20	2.48 \pm 0.49	n.s.
Malvasía riojana	1.23 \pm 1.05	3.93 \pm 2.23	n.s.
Viura	4.62 \pm 5.73	8.67 \pm 4.30	n.s.
g.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 3. D.O. 420 nm en mostos de variedades blancas. Años 2012 y 2013. Media \pm desviación estándar (n = 2).

Variedad	Mostos 2012	Mostos 2013
Tempranillo blanco	0.070 \pm 0.01	0.077 \pm 0.00
Maturana blanca	0.145 \pm 0.01	0.131 \pm 0.00
Turruntés	0.100 \pm 0.03	0.097 \pm 0.01
Garnacha blanca	0.128 \pm 0.02	0.101 \pm 0.01
Malvasía riojana	0.253 \pm 0.18	0.211 \pm 0.15
Viura	0.086 \pm 0.02	0.057 \pm 0.01

lluvias, únicamente se recogieron 30 mm entre los meses de junio y julio. Por ello, en la campaña 2012 el viñedo presentaba un cierto estrés hídrico, hecho que pudo afectar a la síntesis de glutatión.

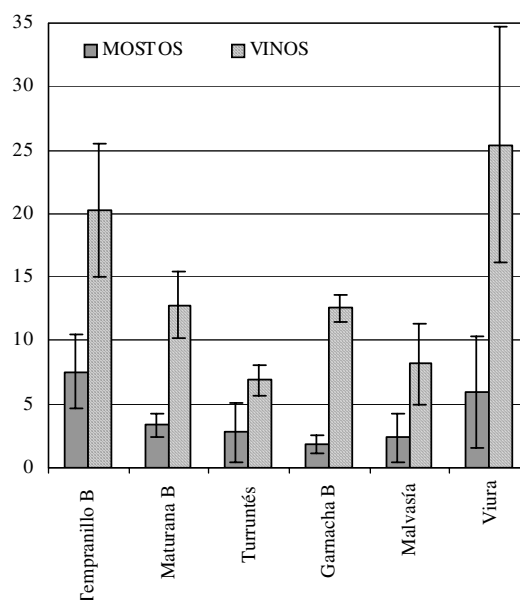
En los mostos con mayor concentración de glutatión, correspondientes a las variedades Tempranillo blanco y Viura, el color amarillo estimado por la medida de la D.O. 420 nm, fue más bajo (Tabla 3). Por el contrario, los mostos de Garnacha blanca y Malvasía, con bajo contenido de glutatión, presentaron un color más oxidado.

En los vinos tampoco se obtuvieron diferencias entre las variedades estudiadas en la campaña 2012, mientras que en 2013 los elaborados a partir de la variedad Viura mostraron un contenido superior a los procedentes de Malvasía, siendo el resto intermedios (Tabla 4). Al igual que en los mostos, la variedad Tempranillo blanco presentó los valores más elevados en 2012; sin embargo, en 2013 fueron superiores en Viura. En ambas campañas el contenido más bajo correspondió a los vinos de Malvasía riojana. Los contenidos de glutatión en un estudio efectuado sobre 28 vinos de Sauvignon blanc mostraron un rango de concentraciones entre 1.3 y 34.7 mg/L, con un valor medio de 12.5 mg/L [17]. En 43 vinos de Sudáfrica procedentes de diferentes variedades de uva (Chardonnay, Sauvignon blanc, Chenin blanc, Semillon y Petillant blanc) el valor más elevado de glutatión encontrado fue de 27.4 mg/L [16], observándose un descenso de su contenido durante el envejecimiento.

En todos los vinos se produjo un incremento del contenido de glutatión con respecto a los mostos de partida. Los resultados existentes en la bibliografía sobre la evolución del glutatión durante la fermentación alcohólica

Tabla 4. Contenido en glutatión (ppm) en vinos de variedades blancas. Años 2012 y 2013. Media \pm desviación estándar (n = 2).

Variedad	Vinos 2012	Vinos 2013	g.s.
Tempranillo blanco	26.3 \pm 1.44a	15.9 \pm 0.85 b	*
Maturana blanca	11.8 \pm 3.03	15.9 \pm 0.02	n.s.
Turruntés	7.29 \pm 1.06	7.33 \pm 2.21	n.s.
Garnacha blanca	11.7 \pm 1.77	11.5 \pm 0.90	n.s.
Malvasía riojana	6.68 \pm 4.14	4.31 \pm 3.39	n.s.
Viura	13.9 \pm 12.4	21.8 \pm 8.97 a	n.s.
g.s.	n.s.	*	n.s.

**Figura 1.** Contenido en glutatión (ppm) en mostos y vinos de variedades blancas. Media \pm desviación estándar (n = 2).

son contradictorios, algunos autores [6–8] observaron un incremento, mientras que en otros casos este compuesto disminuyó [5,7]. El contenido de glutatión después de la fermentación puede depender de la cepa de levadura empleada [7]. En un trabajo llevado a cabo con diferentes inóculos de levaduras comerciales en un vino sintético suplementado con glutatión, se apreció una disminución de este compuesto durante la fermentación alcohólica, observándose que los vinos fermentados con la cepa X16 mantenían un contenido superior al resto [18].

Las concentraciones medias de glutatión en los mostos y vinos varietales se muestran en la Figura 1. El incremento de glutatión observado en los vinos fue muy significativo en todas las variedades excepto en Malvasía y en Viura, en esta última debido a la elevada desviación estándar de los resultados. El intervalo de incremento medio se situó entre el 53% (en Malvasía) y el 84% (en Garnacha blanca).

Conclusiones

En este trabajo se ha cuantificado por primera vez el contenido de glutatión en mostos y vinos varietales de diferentes viníferas autorizadas en la D.O.Ca. Rioja. Los resultados obtenidos han contribuido a poner de manifiesto el efecto de la variedad y la añada sobre el contenido de este compuesto:

- Los niveles de glutatión obtenidos en mostos y vinos se encuentran dentro del intervalo descrito en otros trabajos sobre este compuesto.
- En los mostos se ha observado una reducción del color amarillo al aumentar la concentración de glutatión.
- La variedad Tempranillo blanco ha presentado concentraciones elevadas de este compuesto en mostos y vinos, que sugieren un buen potencial antioxidante. Esta variedad manifiesta características sensoriales de calidad y solamente se cultiva en la D.O.Ca. Rioja (España).
- La variedad Viura también ha mostrado un alto contenido de glutatión, especialmente en los vinos, que puede ser la causa de su color amarillo pálido.
- El incremento de glutatión ha sido muy notable en los vinos y podría estar relacionado con la cepa de levadura inoculada.

Finalmente, es preciso destacar la necesidad de continuar con este trabajo, con el fin de disponer de un mayor número de muestras que permitan ampliar los conocimientos sobre el comportamiento de este compuesto.

Bibliografía

- [1] E. Kritzinger, F. Bauer, W. du Toit. *J. Agric. Food Chem* **61**, 269–277 (2013)
- [2] V. Cheynier, J.M. Souquet, M. Moutounet. *Am. J. Enol. Vitic.* **40**, 320–324 (1989)
- [3] D.O. Adams, C. Liyanage. *Am. J. Enol. Vitic.* **44**, 333–338 (1993)
- [4] X. Choné, V. Lavigne-Cruègue, T. Tominaga, C. Van Leeuwen, C. Castagnede, C. Saucier, D. Dubourdiou. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **40**, 1–6 (2006)
- [5] W.J. Du Toit, K. Lisjak, M. Stander, D. Prevoo. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 2765–2769 (2007)
- [6] S. Park, R. Boulton, A. Noble. *A. J. Enol. Vitic.* **51**, 91–97 (2000)
- [7] V. Lavigne, A. Pons, D. Dubourdiou. *J. Chormatogr. A* **1139**, 130–135 (2007)
- [8] I. Andujar-Ortiz, M.A. Pozo-Bayon, M.V. Moreno-Arribas, P.J. Martín-Alvarez, J.J. Rodríguez-Bencomo. *Food Anal. Methods* **5**, 154–161 (2012)
- [9] T. Mikaye, T. Hazu, S. Yoshida, M. Kanayama, K. Tomochika, S. Shinoda, B. Ono. *Biosci., Biotechnol., Biochem* **62**, 1858–1864 (1998)
- [10] D. Fracassetti. Thesis. University of Milán, Italia (2010)
- [11] M. Ugliano, M.J. Kwiatkowski, S. Vidal, D. Capone, T. Siebert, J.B. Dieval, O. Agarrad, E.J. Waters. *J. Agric. Food Chem* **59**, 2564–2572 (2011)
- [12] V.L. Singleton, M. Salgues, J. Zaya, E. Trousdale. *Am. J. Enol. Vitic.* **36**, 50–56 (1985)
- [13] W.J. Du Toit, J. Marais, I.S. Pretorius. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **27**, 76–94 (2006)
- [14] D. Papadopoulou, I.G. Roussis. *Int. J. Food Sci. Technol.* **43**, 1053–1057 (2008)
- [15] A. Pastore, G. Federici, E. Bertini, F. Piemonte, *Clin. Chim. Acta* **333**, 19–39 (2003)
- [16] D. Fracassetti, N. Lawrence, A.G.J. Tredoux, A. Tirelli, H.H. Nieuwoudt, W.J. Du Toit. *Food Chemistry* **128**, 1136–1142 (2011)
- [17] L. Janes, K. Lisjak, A. Vanzo. *Anlytica Chimica Acta* **674**, 239–242 (2010)
- [18] E. Kritzinger, C. Coetzee, D. Fracassetti, M. Gabrielli, W. du Toit. *XXIV Entretiens Scientifiques Lallemand* (2013)