

# Utjecaj različitih sojeva kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*) na fermentaciju mošta i kvalitetu vina sorte cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.)

---

Juranić, Danijel

Master's thesis / Diplomski rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:067109>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-25**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Danijel Juranić

Sveučilišni diplomski studij

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ RAZLIČITIH SOJEVA KVASACA (*Saccharomyces cerevisiae*) NA  
FERMENTACIJU MOŠTA I KVALITETU VINA SORTE CABERNET  
SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Danijel Juranić

Sveučilišni diplomski studij

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ RAZLIČITIH SOJEVA KVASACA (*Saccharomyces cerevisiae*) NA  
FERMENTACIJU MOŠTA I KVALITETU VINA SORTE CABERNET  
SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Mato Drenjančević, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Vladimir Jukić, mentor
3. prof.dr.sc. Borislav Miličević, član

**Osijek, 2020.**

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	2
3. MATERIJAL I METODE .....	5
3.1 Cabernet sauvignon .....	5
3.2 Kvasci .....	6
3.2.1. Lalvin ICV D254 .....	7
3.2.2. Anchor Alchemy IV .....	7
3.2.3. Lalvin EC 1118 .....	8
3.3. Proizvodnja crnih vina .....	9
3.3.1. Fenolna zrelost .....	10
3.3.2. Maceracija .....	11
3.3.3. Alkoholna fermentacija .....	13
3.3.4. Otakanje vina .....	14
3.3.5. Prešanje vina .....	15
3.3.6. Sumporenje .....	15
3.4. Bakterije .....	16
3.5. Vino .....	17
3.6. Provedba pokusa .....	17
3.6.1. Određivanje ukupnog sadržaja antocijana .....	18
3.6.2. Određivanje sadržaja šećera .....	19
3.6.3. Određivanje pH vrijednosti .....	19
4. REZULTATI .....	21
4.1. Sadržaj ukupnih antocijana u moštu i vinu .....	22
4.2. Sadržaj šećera u moštu i vinu .....	24
4.3. Realni aciditet u moštu i vinu (pH) .....	25
4.4. Sadržaj ukupnih antocijana, šećera i pH vrijednost vina .....	27

5. RASPRAVA .....	28
6. ZAKLJUČAK.....	29
7. POPIS LITERATURE .....	30
8. SAŽETAK .....	32
9. SUMMARY .....	33
10. POPIS TABLICA .....	34
11. POPIS SLIKA.....	35
12. POPIS GRAFIKONA .....	36

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

## 1. UVOD

Uzgoj vinove loze i umijeće spravljanja vina čovječanstvu su poznati već nekoliko tisuća godina, a pretpostavlja se da potječe iz Male Azije koja je kolijevka najstarijih civilizacija. Većina znanstvenika smatra da je predak vinove loze prema morfološkim i genetičkim istraživanjima divlja euroazijska loza *Vitis sylvestris*. Smatra se da je postupak proizvodnje vina nastao sasvim slučajno zbog neodgovarajućeg čuvanja grožđa. Naime, sok vinove loze idealan je supstrat za fermentaciju, dok je kožica bobice prirodno stanište za kvasce (Maletić i sur., 2008.).

Cabernet sauvignon nastao je u 17. stoljeću slučajnim križanjem sorti Cabernet franc i Sauvignon bijeli. Na globalnoj razini Cabernet sauvignon jedna je od najboljih crnih vinskih sorti diljem svijeta. Vino sadrži visok sadržaj tanina i dobru kiselost, što vinima ove sorte daje potencijal za dozrijevanje. Vina su duboke tamne rubin crvene boje, okarakterizirana tipičnim voćnim mirisima koji podsjećaju na bobičasto voće. Vino se dobro sljubljuje sa hrastovinom tijekom fermentacije ili tijekom dozrijevanja u bariknim bačvama. U hrvatska vinogorja stigao je 1880. godine u Istru tijekom prve obnove vinograda. Cabernet sauvignon može se saditi u podregijama Podunavlje, Slavonija, Moslavina, Prigorje-Bilogora te u svim podregijama Primorske Hrvatske (Herjavec, 2019.).

Jednostanični organizmi koji su nosioci alkoholne fermentacije su kvasci. Mošt predstavlja odličan medij za kvasce jer sadrži tvari koje su potrebne za razvoj mikroorganizama. Porodice kvasaca koje su značajne u vinarstvu su: *Schizosaccharomycetalesoideae*, *Saccharamycodaceae*, *Saccharomycetaceae*, *Candidaceae*, *Metschnikowiaceae*. Kvasci odgovorni za alkoholnu fermentaciju najčešće potječu s površine grožđa, opreme u vinariji, različitih starter kultura. Čimbenici koji utječu na ukupnu populaciju kvasaca su: temperatura, oborine, stupanj zrelosti grožđa, vrijeme berbe, upotreba fungicida, fizikalna oštećenja te kultivar vinove loze. Vinarska oprema koja dolazi u kontakt s moštom i vinom, vremenom postaje mjesto razvoja autohtone mikroflore vinarije (Grba, 2010.).

Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj različitih sojeva kvasaca na fermentaciju mošta i kvalitetu vina sorte Cabernet sauvignon.

## 2. PREGLED LITERATURE

Gognies i sur. (2001.) istraživali su djelovanje kvasca *Saccharomyces cerevisiae* na biljku vinove loze. Uočeno je da određeni sojevi kvasaca mogu prodrijeti u samu biljku vinove loze, dovodeći do zastoja u rastu ili čak do smrti biljke. Razlike u formi stanica i metabolizmu (stvaranje pektolitičkih enzima) temelje se na nitastim oblicima i potrebno je njihovo pektolitičko djelovanje kako bi ušli u tkivo. Simbioza biljke i kvasca potvrđena je histološkim putem. *Saccharomyces cerevisiae* tako može preživjeti na biljci i nekoliko godina.

Plavša i Kovačević-Ganić (2011.) određivali su sadržaj antocijana i pojedinačne antocijane u berbi 2009. godine u vinima Teran i Cabernet sauvignon tehnikom tekuće kromatografije visoke djelotvornosti. Istraživao se utjecaj tri komercijalna *Saccharomyces cerevisiae* kvasca (Uvaferm BDX, D254 i Fermol Premier Cru) na koncentraciju antocijana. Istraživanje je pokazalo da kvasci Uvaferm BDX i D254 ekstrahiraju više aciliranih i neaciliranih antocijana.

Kako različiti sojevi kvasca utječu na sastav i kvalitetu organoleptičkih svojstava vina sorte Traminac istraživali su Čus i Jenko (2013.). Kroz istraživanje su ispitana tri različita soja kvasaca kroz mikrovinifikaciju. U vinu su izmjereni kemijski parametri i koncentracija slobodnih hlapljivih monoterpenskih alkohola te je napravljena senzorska analiza. U fermentaciji s referentnim sojevima *Saccharomyces cerevisiae* uočeno je više geraniola i nerola, dok u fermentaciji s hibridima *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces paradoxus* je pronađeno više citronelola, koji ujedno daju okus tropskog voća. Najbolja kvaliteta vina postignuta je kombinacijom sojeva *Saccharomyces* i *Torulasporea delbrueckii*.

Morata i sur. (2016.) navode boju kao karakteristiku koju potrošač prvu uoči kod vina, koja ima utjecaja i na okus. Daje predstavu o kvaliteti vina, starosti, oksidaciji i strukturi što ju čini važnim čimbenikom glede percepcije vina od strane potrošača. Neki kvasci mogu utjecati na stvaranje polimernih pigmenata mehanizmima koji mogu uključivati proizvodnju molekula poput acetaldehida. Intenzivna uporaba kvasaca koji nisu *Saccharomyces*, dovodi do novih otkrića o poboljšanjima boje vina.

Okus i aroma kao organoleptičke karakteristike vina, najvažniji su parametri za ocjenu kvalitete vina. Njihovo podrijetlo dolazi iz grožđa, vinifikacije, sazrijevanja i starenja. Koncentracije različitih komponenti koje utječu na miris, ovise i o kvascu tijekom

fermentacije. Glavne tvari nastale tijekom fermentacije su hlapive tvari poput estera, viših alkohola i karbonilnih spojeva. Ti spojevi potječu iz sekundarnog metabolizma kvasca (Mina i Tsaltas, 2017.).

Topić-Božić i sur. (2019.) navode kvasce kao odgovorne ne samo za transformaciju šećera u etanol, nego odgovorne i za aromu, teksturu, okus te boju vina. Kvasci koji su se u prošlosti smatrali da uzrokuju kvarenje, korišteni su kao pokretači fermentacije jer poboljšavaju senzoričke karakteristike vina. Pošto se smatraju lošim fermentatorima, njihova kombinacija sa *Saccharomyces* kvascima primjenjuje se u obliku uzastopne fermentacije. Kod crvenih vina, boja ima posebnu važnost jer je to prvo obilježje vina koje potrošači uoče. Boja potječe iz antocijana koji se nalaze u sjemenkama i pokožici grožđa, ekstrahira se tijekom maceracije i fermentacije. U odnosu na antocijane, piranoantocijanini su manje osjetljivi na pH, izbjeljivanje, SO<sub>2</sub> i prisutnost kisika. Njihova koncentracija ovisi o soju kvasaca koji je upotrijebljen te vrsti fermentacije. Primjena različitih sojeva kvasaca *Saccharomyces* i ne-*Saccharomyces* može poboljšati boju vinu pomoću različitih metoda fermentacije.

Vino je karakterizirano okusom, aromom te bojom. Neuobičajene arome i mirisi ili sumnjive boje i sedimenti prisutni u boci ili čaši, mogu negativno utjecati na kvalitetu vina. Profil okusa može se prikazati kao rezultat velikog broja varijacija u proizvodnji, uključujući i odabir sorte, znanje i tehniku proizvodnje. Na boju vina može se utjecati tijekom procesa proizvodnje vina. Kvasci *Saccharomyces* i ne-*Saccharomyces* te bakterije mliječne kiseline, kao izbor vinara, mogu pomoći da se postignu najbolje karakteristike u poboljšanju senzorskih kvaliteta vina, izbjegavajući kvarenje i proizvodnju lošijih aroma ili boje vina (Vilela, 2020.).

Pei-Tong i sur. (2016.) istraživali su kako različiti ne-*Saccharomyces* kvasci utječu na aromatski profil vina Cabernet sauvignon tijekom spontane fermentacije i inokulirane fermentacije. Vino dobiveno spontanom fermentacijom je imalo izraženiju voćnu aromu u odnosu na vino dobiveno inokuliranom fermentacijom. Za vino dobiveno spontanom fermentacijom karakteristična je veća količina masnih kiselina srednjih lanaca, estera, terpena, dok kod inokulirane fermentacije vino sadrži više aldehida i više alkohola. Pet vrsta ne-*Saccharomyces* kvasaca, uključujući *Hanseniaspora uvarum*, *Candida stella*, *Pichia fermentans*, *Issatchenkia orientalis* i *Metschnikowia pulcherrima*, izolirano je iz spontane fermentacije, a njihove enološke osobine ispitivane su u miješanoj fermentaciji sa



*Saccharomyces cerevisiae*. Mješovita kultura *Pichia fermentans* i *Candida stella* sa *Saccharomyces cerevisiae* može stvoriti veće razine estera, masnih kiselina u usporedbi s monokulturom *Saccharomyces cerevisiae*. Rezultati sugeriraju da sojevi kvasca ne-*Saccharomyces* uvelike doprinose kvaliteti voćne arome vina, a mješovita kultura kvasca *Saccharomyces* s kvascima poput *Pichia fermentans*, *Candida stella* ili *Metschnikowia pulcherrima* poboljšavaju aromatičnu složenost vina.

Ne-*Saccharomyces* kvasci ključni su za dobivanje vina sa smanjenim udjelom etanola. Među izlučenim enzimima  $\beta$ -glukozidaza sudjeluje u oslobađanju terpena u vinima i tako pridonosi sortnoj aromi, dok  $\beta$ -ksilozidaza sudjeluje samo u razgradnji hemiceluloze (Mateo i Maicas, 2016.).

Radovanović (1970.) opisuje *Saccharomyces cerevisiae* kvasce kao najpoznatije i najzastupljenije sojeve kvasaca u procesu alkoholne fermentacije. Na početku fermentacije njihova zastupljenost je 31,4%, na sredini fermentacije 87,5%, a na kraju fermentacije njihova zastupljenost iznosi 50,3%. Mogu stvoriti oko 17% alkohola. Spadaju u grupu sporogenih kvasaca s većim brojem sojeva, koji se međusobno odlikuju više-manje specifičnim svojstvima.

Ponzzes-Gomes i sur. (2014.) proveli su istraživanje o autohtonim sojevima *Saccharomyces cerevisiae* u prirodno fermentiranom soku Cabernet sauvignon u dolini rijeke São Francisco. U istraživanju, fiziološkim testovima izdvojeno je i identificirano 155 *Saccharomyces cerevisiae* kvasaca i 60 ne-*Saccharomyces*. Među ne-*Saccharomyces* kvascima, najčešći soj bio je *Rhodotorula mucilaginosa*. Njihov broj kretao se između 1,0 do 19,0 cfu/mL. Istraživanjem je utvrđeno da su autohtoni sojevi *Saccharomyces cerevisiae* primarni pokretači fermentacije vina.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1 Cabernet sauvignon

Porijeklo mu je iz Francuske. Uzgaja se u Italiji, Španjolskoj, Rusiji, Ukrajini, Rumunjskoj, SAD-u, Čileu, Argentini i drugim zemljama u kojima prevladava umjerena klima. Spada u bujne sorte. Jednogodišnja mladica je debela i ljubičaste je boje. Međukoljenca su kratka dok su koljenca izražena. Listovi su petodijelni i srednje su veličine, tanki i tamnozeleno boje. Sinusi duboko urezani, mogu biti i preklopljeni. Lice mu je golo dok je naličje paučinasto i dlakavo (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.).

Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan. Bobice sitne, okrugle s pokožicom modre boje. Grozdovi su srednje veličine cilindričnog oblika, težine 80-90 g. Dozrijeva krajem treće faze i spada u kasne sorte. Koeficijent rodosti je 1,2-1,4. Urod se kreće od 6000 do 12000 kg (Mirošević i Turković, 2003.).

Lucnjevi se režu na 10 do 12 pupova. Prihvatljivi su svi uzgojni oblici koji mu omogućavaju dugu i mješovitu rezidbu. Voli rastresita i propusna tla. Ima izrazitu otpornost na plamenjaču i sivu plijesan. Svrstava se u najotpornije sorte na niske zimske temperature. Pupovi smrzavaju na temperaturi od -22 do -24 °C. Mošt sadrži 20-24% šećera, i 7-9 g ukupnih kiselina, vrlo ugodnog mirisa. Vino sadrži 12-14% alkohola i 6-7 g/l ukupnih kiselina. Vino je izrazito pitko, harmonično i osvježavajuće. Po kvalitetnim karakteristikama vino zauzima prvo mjesto u svijetu na listi kvalitetnih i vrhunskih vina (Žunić i Matijašević, 2009.).



Slika 1. Cabernet sauvignon, Autor, 2019.

### 3.2 Kvasci

Louis Pasteur prvi je otkrio povezanost između kvasca i fermentacije. Kvasci se mogu razlikovati prema obliku stanice, načinu razmnožavanja te enološkim značajkama. *Saccharomyces bayanus* može tolerirati razinu alkohola 17-20% te se koristi u proizvodnji vina kao što su Zinfandel i Syrah. *Schizosaccharomyce pombe* je kvasac koji enzimskim reakcijama pretvara jabučnu kiselinu u etanol i ugljikov dioksid. *Zygosaccharomyces bailii* provodi spontane fermentacije mošta s visokom koncentracijom šećera do 60%. Vrlo je tolerantan na alkohol i može se razvijati u vinima koja sadržavaju do 18 vol. % etanola. Također je vrlo otporan na sumporov dioksid. Divlji kvasci koji pripadaju rodovima *nesaccharomyces* kvasaca nalaze se u vinogradu i na samom grožđu. Šire se zračnim strujama, pticama te insektima. Najzastupljeniji divlji kvasac je *Kloeckera apiculata*. Prvi započinje fermentaciju šećera, ali kad se stvori oko 5% vol. alkohola, odumire uslijed inhibicije proizvodom. Divlji kvasci imaju izrazito nisku toleranciju na alkohol i sumporov dioksid. Negativno utječe na kvalitetu vina jer ima sposobnost sinteze etil acetata (Herjavec, 2019.).

*Saccharomyces cerevisiae* je fakultativni anaerob. Prolazi fazu razmnožavanja u aerobnim uvjetima, alkoholnu fermentaciju u anaerobnim uvjetima i fazu razgradnje. Razmnožavanje kvasaca potrebnih za fermentaciju šećera protječe u aerobnim uvjetima uz prisutnost kisika iz zraka tijekom muljanja grožđa. Za razmnožavanje kvasaca kisik je neophodan uz kojeg kvasci bolje koriste energiju jer šećer u potpunosti oksidira do vode i ugljikovog dioksida. Optimalna temperatura za razmnožavanje kvasaca je 25-27 °C. Na brzinu razmnožavanja utječu faktori poput količine dodanog sumporovog dioksida, pH vrijednosti, sadržaj šećera te drugih sastojaka u moštu. Kvasci roda *Saccharomyces* imaju jaku sposobnost razgradnje šećera uz pH vrijednost između 2,8 i 4,0 i toleranciju na visoku razinu alkohola i sumporovog dioksida. Mogu stvoriti do 17% vol. alkohola. Kako bi kvasci mogli završiti alkoholnu fermentaciju, energiju dobivaju metabolizirajući određene nutrijente, prvenstveno šećere i asimilacijske oblike dušičnih spojeva. Preferiraju jednostavne šećere poput glukoze i fruktoze, ali mogu koristiti i disaharide. Mogu biti glukofilni jer preferiraju glukozu ili fruktofilni jer preferiraju fruktozu. Fruktofilni kvasci pogodni su fermentaciju mošta kasnije branog grožđa koji sadrže više te heksoze. Uz glukozu i fruktozu najvažniji nutrijent je dušik. Najviše dušičnih spojeva nalazi se u kožici bobice i sjemenkama. Mošt sadrži 50-2400 mg/L ukupnog dušika, no kvasci mogu koristiti samo manji dio. Asimilacijski oblici dušika su spojevi koje kvasac može metabolizirati

tijekom alkoholne fermentacije. Na količinu potrebnog dušika utječu zdravstveno stanje i zrelost grožđa i uvjeti fermentacije (Herjavec, 2019.).

### 3.2.1. Lalvin ICV D254

Optimalna temperatura fermentacije mu je 15-30 °C. Fermentaciju završava kod 30 °C i do 14% vol. alkohola. Ima vrlo brzi početak fermentacije i nema pjenjenja. Proizvodi vrlo malo SO<sub>2</sub>, etil acetata i acetaldehida. Pokazuje visoku ekstrakciju antocijana i tanina. Daje intenzivan voćni karakter. Vina su na okus bogata, puna i lijepe taninske strukture. Stabilna sortna aroma i dobar je za dugu maceraciju. Dozira se 25 g suhog kvasca na 100 litara mošta ([www.pavin.hr](http://www.pavin.hr)).



Slika 2. Kvasac Lalvin ICV D254, Autor, 2019.

### 3.2.2. Anchor Alchemy IV

Optimalna temperatura fermentacije je 16-28 °C. Snažan je fermentator i ne stvara pjenu. Mješavina je sojeva vinskih kvasaca. Pogodan je za optimalni aromatski stil na crnim vinima. Pogodan za proizvodnju intenzivnih crvenih voćnih nota u vinima. Proizvodi vrlo visok postotak etil estera što pridonosi dugovječnosti voćnih aroma. Pogodan za starenje

vina koji zadržavaju svoje crvene voćne note. Dozira se 30 g suhog kvasca na 100 litara mošta ([www.vinoartis.hr](http://www.vinoartis.hr)).



Slika 3. Kvasac Anchor Alchemy IV, Autor, 2019.

### 3.2.3. Lalvin EC 1118

Optimalna temperatura fermentacije je 8-30 °C. Stvara vrlo malo pjene i ima izvanredna svojstva samobistrenja. Alkoholna fermentacija ide do 16-18% vol. alkohola. Ima odlična svojstva fermentacije kod nižih temperatura. Proizvodnja spojeva sumporovog dioksida je vrlo mala. Dobar za pokretanje zastoja vrenja. Dozira se 25 g suhog kvasca na 100 litara mošta ([www.pavin.hr](http://www.pavin.hr)).



Slika 4. Kvasac Lalvin EC 1118, Autor, 2019.

### 3.3. Proizvodnja crnih vina

Sve je češća primjena strojnog branja grožđa. Strojna berba je manje rizična za kakvoću crnih vina nego bijelih. Kakvoća crnih vina uvjetovana je sortom, dobrim zdravstvenim stanjem i zrelošću. Grožđe koje je nedovoljno zrelo ili prezrelo neće dati željenu obojenost vina. Sinteza i nakupljanje antocijana ovise o razini dušika, intenzitetu svjetlosti te vodnom stresu. Kako bi vino bilo kvalitetno, potrebno je obaviti berbu u pravo vrijeme, odnosno u fazi fenolne zrelosti (Herjavec, 2019.).



Slika 5. Eksperimentalni uzorci u transportu, Autor, 2019.

### 3.3.1. Fenolna zrelost

Dok je u svijetu uobičajeno određivanje roka berbe na osnovi fenolne zrelosti, u Hrvatskoj se određuje samo na količini šećera i osnovi ukupne kiselosti. Klimatski uvjeti su vrlo bitni za zrelost crnog grožđa. Tako u područjima gdje je klima hladnija, berba se obavlja ranije, što rezultira slabo obojenim vinima s manjom koncentracijom alkohola te previsokim sadržajem kiselina. Kod Cabernet sauvignona, u vinima od nezrelog grožđa, okus može podsjećati na zrno papra ili gorko bilje. Grožđe koje je prezrelo daje vina koja su slabije obojena, s manjom kiselosti i većim pH te većom koncentracijom alkohola. Vrlo je bitno poznavati kako ukupni sadržaj i količine fenolnih spojeva utječu na kvalitetu vina.

Na boju vina utječu antocijani, polimerni pigmenti i flavonoli. Gorčinu okusa prouzrokuju fenolni spojevi manjih molekularnih težina i taninski spojevi. Trpki okus potječe iz visokomolekularnih tanina. Intenzitet ovisi o stupnju polimerizacije te je dokazano da tetrameri daju jači osjet trpkosti. Aroma može potjecati od mekanih tanina, zrelog grožđa ili pak dugotrajne maceracije i dugog razdoblja dozrijevanja. Potrebno je poznavati određene tehnološke postupke u vinogradu i u vinifikaciji kako bi se proizvelo vino intenzivnije boje i bogatijeg okusa. Taninski spojevi najviše se nalaze u sjemenkama, kožici bobice i peteljkovini. Prosječan broj taninskih spojeva raste dozrijevanjem grožđa što je bitna značajka određivanja fenolne zrelosti. Kožica bobice koja sadrži nepolimerizirane tanine rezultira vinima koja su slabije kvalitete (Herjavec, 2019.).

Fenolna zrelost može se opisati kao optimalni odnos količine antocijana u kožici i taninskih spojeva u sjemenkama i kožici bobice. Odnos antocijana i taninskih spojeva ovisi o sorti. Nositelji boje, antocijani, nalaze se u stanicama kožice koje sadrže i neke taninske frakcije. Kako grožđe dozrijeva, sadržaj antocijana u kožici se povećava. Grožđe koje je nezrelo sadrži velik broj tanina trpkog okusa koji se lagano izdvajaju u maceraciji. Koncentracija manje trpkih tanina povećava se s većom dozrelosti grožđa. Fenolna zrelost različita je za svaku sortu jer se razlikuju po antocijanskom i taninskom profilu (Simon, 2006.).

Fenolna zrelost može se utvrditi spektrofotometrijskim metodama određivanja ukupnih fenola, ukupnih antocijana i visokomolekularnih i niskomolekularnih tanina. Koncentracija tanina se tijekom dozrijevanja ne mijenja značajno, ali se mijenja intenzitet njihova izdvajanja za vrijeme maceracije u tekuću frakciju masulja. U tijeku dozrijevanja sjemenka mijenja boju iz zelene u smeđu i dolazi do smanjenja stupnja ekstrakcije, odnosno

izdvajanja tanina u maceraciji. Berba grožđa se treba obaviti barem na osnovi senzorskih procjena tanina kožice, odnosno prisutnosti zrelih tanina koji se razvijaju prije faze zrelosti. Zelene sjemenke sadrže tanine koji su grubi i mogu se ekstrahirati tijekom fermentacije masulja (Herjavec, 2019.).

### 3.3.2. Maceracija

Pod maceracijom se podrazumijeva kraći ili dulji kontakt tekuće i čvrste frakcije masulja, odnosno grožđanog soka te kožice i sjemenki bobica. Iz stanica kožice u sok se ekstrahiraju antocijani, tanini, mineralni i dušični spojevi te komponente arome, dok se iz sjemenki ekstrahiraju taninski spojevi. Proizvodnja crnih vina podrazumijeva postupak maceracije u strogo kontroliranim uvjetima temperature i duljine trajanja. Ekstrakcija antocijana iz čvrste u tekuću fazu masulja utječe na intenzitet boje, dok ekstrahirani taninski spojevi utječu na strukturu i skladnost okusa vina (Herjavec, 2019.).

Sorte koje sadrže antocijane nazivamo bojitelji. Ekstrakcija antocijana ovisi o stupnju zrelosti grožđa te kvaliteti kožice bobice. Visok sadržaj antocijana u grožđu ne podrazumijeva istodobno visoko obojena vina. Neoštećene stanice kožice ne otpuštaju antocijane. Mehaničkim muljanjem dolazi do oslobađanja vrlo male količine antocijana. Antocijani su slabo topljivi u vodenom mediju, tj. moštu. Za željenu boju potrebna je destrukcija stanične stijenke koja nastupa tijekom alkoholne fermentacije. Topljivost i ekstrakciju antocijana povećavaju povišena temperatura, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> i prisutnost alkohola. Antocijani se ekstrahiraju u tekuću frakciju masulja u početku fermentacije, odnosno pri nižim koncentracijama alkohola. Maksimum ekstrahiranja odvija se treći ili četvrti dan od početka fermentacije. Nakon navedenog perioda, koncentracija antocijana se smanjuje jer dio prelazi u netopivi oblik i taloži se, dok su dio apsorbirali kruti dijelovi komine i kvasci.

Ekstrakcija taninskih spojeva odvija se u alkoholnom mediju i količina se povećava tijekom maceracije zbog prisutnosti sjemenki. Količina taninskih spojeva ovisi o duljini i temperaturi maceracije, a povećava se pri temperaturama većim od 26 °C. Mijenjanjem temperature može se utjecati na stil budućeg vina, te na njegovu boju i okus (Herjavec, 2019.).

Kratke maceracije se preporučuju za manje količine grožđa, sorte s manjom kiselosti, sorte koje sadrže više tanina te bolesno i mehanički oštećeno grožđe. Pitak okus tih vina podrazumijeva manje taninskih spojeva. Dulje maceracije se provode za zdravo i dozrelo



grožđe. Temperature tijekom maceracije mogu značajno utjecati na kvalitetu crnih vina. Uobičajene temperature za maceraciju i fermentaciju crnog vina su u intervalima od 18 do 32 °C. Maceracija se može odvijati prije alkoholne fermentacije, istodobno s alkoholnom fermentacijom ili nakon alkoholne fermentacije. Ekstrakcija taninskih spojeva u sjemenkama i kožici može se provesti alkoholnom fermentacijom, postupkom karbonske maceracije, termovinifikacijom te hladnom maceracijom masulja.

Hladna maceracija može trajati do 6 dana. S obzirom na utjecaj hladne maceracije, preporučljivo je svakih 8 sati kušati sok masulja kako bi se dobila željena obojenost i voćne arome. Zbog povećanja sadržaja polifenola i polisaharida tijekom hladne maceracije, povećava se intenzitet i nijansa boje vina. Okus vina postaje kompleksniji i puniji.

Produljena fermentacija koristi se kako bi se povećala količina taninskih spojeva. Nakon alkoholne fermentacije, vino se ne otače, nego se ostavlja na produljenoj maceraciji 14 do 20 dana na temperaturi od 10 do 13 °C (više temperature mogu prouzročiti mikrobiološku nestabilnost vina). Ne preporučuje se sumporenje komine i mladog vina jer niske temperature inhibiraju djelovanje oksidacijskih enzima i octenih bakterija. Vrijeme produljene maceracije ovisi o sorti. Vina produljene fermentacije brže dozrijevaju što je ekonomski isplativo jer se ubrzava njihovo plasiranje na tržište (Herjavec, 2019.).

Karbonska maceracija predstavlja maceraciju cijelih grozdova u atmosferi ugljikovog dioksida. Nakon završene maceracije, grožđe se mulja i runi, a obojeni mošt se podvrgava alkoholnoj fermentaciji. Grozdovi se stavljaju u posude u koje se uvodi ugljikov dioksid pod tlakom. Takav postupak najjednostavnije se provodi u inoks posudama. Ugljikov dioksid prodire kroz kožicu bobice i potiče intercelularnu fermentaciju koja protječe unutar netaknute strukture svake bobice. U bobicama se stvara do 2,5% alkohola. Nakon završene maceracije kožice bobice su smežurane, a sok je obojen. Kako bi se dobilo vino željene boje, potrebno je postići zasićenje ugljikovim dioksidom od najmanje 95%. Vina proizvedena hladnom maceracijom pri temperaturi od 16 do 18 °C sadrže manje fenola nego vina proizvedena maceracijom pri temperaturi od 30 do 32 °C. Karbonska maceracija koristi se za proizvodnju laganih vina, crvene boje, s karakterističnim voćnim aromama.

Termovinifikacija odnosno vruća maceracija, podrazumijeva zagrijavanje masulja na temperaturi od 60 do 90 °C. Zagrijavanje masulja traje od 10 do 120 minuta. Masulj se hladi na temperaturu od oko 60 °C i ocjeđuje. Ocijeđeni masulj se preša, a prešavina fermentira zasebno. Kako bi došlo do alkoholne fermentacije, potrebno je dodati selekcionirane kvasce,

jer kvasci podrijetlom s grožđa su inaktivirani visokim temperaturama kod zagrijavanja masulja. Termovinifikacijom se postiže 100%-tna ekstrakcija antocijana iz kožice. Zbog niske razine taninskih spojeva, vina nisu sposobna za dulje dozrijevanje. Vina nastala termovinifikacijom brzo gube aromu i sklona su oksidacijskim promjenama (Herjavec, 2019.).



Slika 6. Postupak muljanja i masulj, Autor, 2019.

### 3.3.3. Alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija se odvija na višim temperaturama, U usporedbi s proizvodnjom bijelih vina, traje kraće ali je intenzivnija. Optimalna temperatura alkoholne fermentacije je od 25 do 30 °C. Temperature veće od 30 °C daju vina s većom količinom taninskih spojeva i većom količinom polifenola. Pri visokim temperaturama (33-35 °C) može doći do prekida fermentacije zbog zaustavljanja životne aktivnosti kvasaca. Temperatura niža od 20 °C rezultira vinima slabije boje i s manje taninskih spojeva. Tijekom burne fermentacije ugljikov dioksid potiskuje kožicu i sjemenke na vrh fermentacijske posude pa je potrebno miješanje krute i tekuće frakcije masulja zbog dobre ekstrakcije antocijana. U tihoj fermentaciji dolazi do snižavanja temperature, oslobađanje ugljikovog dioksida se smanjuje, a komina se spušta na dno posude. Povišenjem temperature se

pojačava razgradnja šećera. Kod Cabernet sauvignona, koji je sposoban za dugo dozrijevanje, potrebno je dio fermentacije voditi na višim temperaturama, a završetak razgradnje šećera pri nižim temperaturama. Alkoholna fermentacija može protjecati uz kvasce podrijetlom s grožđa, a mogu se dodati i selekcionirani kvasci. Selekcionirani kvasci imaju sposobnost bolje fermentacije šećera i sintetiziraju više aromatskih spojeva (Herjavec, 2019.).

Otvorena fermentacija podrazumijeva veliki pristup zraka jer se odvija u posudama koje su otvorene. Prikladna je za kratke maceracije i male podrume. Zbog bolje prozračnosti, fermentacija rezultira potpunijom razgradnjom šećera, dok je porast temperature nešto manji. Vino sadrži više hlapljivih kiselina pa vrlo često dođe do problema u protjecanju malolaktične fermentacije. Otvorena fermentacija je relativno skupa i nije ekonomična za veće podrume. Početkom fermentacije dolazi do oslobađanja ugljikovog dioksida koji potiskuje frakciju masulja na površinu. Potrebno je dva do tri puta dnevno provoditi kružno pretakanje jer je mala propusnost komine pa je slabija ekstrakcija boje iz kože u tekuću frakciju (Simon, 2006.).

Tradicionalni postupak fermentacije podrazumijeva istodobno protjecanje maceracije i alkoholne fermentacije u posudama od nehrđajućeg čelika. Paralelno s alkoholnom fermentacijom šećera događa se i ekstrakcija boje, arome i taninskih spojeva iz kože i sjemenki. Fermentacija se može odvijati uz epifitne mikroorganizme, ali se u masulj mogu dodati i starter kulture selekcioniranih kvasaca. Veoma je važno spriječiti dotok zraka masulju odnosno komini kako ne bi došlo do oksidacijskih procesa koji su štetni te razvoja patogenih mikroorganizama.

Zatvorena maceracija se najčešće provodi u hermetički zatvorenim posudama - vinifikatorima. Vinifikatori imaju automatizirani sustav vlaženja klobuka ili komine s moštom. Opremljeni su sustavom za grijanje ili hlađenje. Ekonomičnija je i zahtjeva minimalne količine ljudskog rada. Zbog hermetički zatvorenog sustava smanjena je pojava octikavosti i nepoželjnih oksidacija.

#### 3.3.4. Otakanje vina

Tri su načina otakanja vina. Kod otakanja vina prije završene fermentacije, vino se otače 2 do 4 dana. Količina otočene samotočne frakcije iznosi od 50 do 60%. Vino se zatim smješta na tihu fermentaciju. Tijekom procesa otakanja, vino dobiva dovoljno kisika za

reaktiviranje kvasaca i dolazi do ishlapljivanja viška ugljikovog dioksida. Kod ovog načina otakanja, nije potrebno sumporiti. Otakanje nakon završene fermentacije provodi se kod vina od zrelog grožđa. Kod otakanja nakon produljene maceracije, vino se otače dva do tri tjedna nakon završetka fermentacije. Prikladno je za vina koja su namijenjena za dulje dozrijevanje (Herjavec, 2019.).

### 3.3.5. Prešanje vina

Nakon ocjeđivanja vina, komina se podvrgava prešanju i smješta se u posude od inoksa ili u drvene bačve. Prešavina ne smije imati povišenu hlapivu kiselost koja je dokazana analitičkom i organoleptičkom analizom. U prešavini koja sadrži ostatak šećera, treba ponajprije provesti razgradnju šećera do kraja, a prešavine koje sadrže jabučnu kiselinu, treba završiti proces malolaktične fermentacije (Herjavec, 2019.).



Slika 7. Preša, Autor, 2019.

### 3.3.6. Sumporenje

Sumporenjem se utječe na postojanost, kvalitetu i karakter vina. Sumporenje podrazumijeva dodavanje plinovitog sumporovog dioksida odnosno sulfita u masulj, mošt i vino. Sumporov dioksid je bezbojan plin oštrog mirisa, te ima antiseptično, antioksidacijsko i koagulacijsko djelovanje. Antiseptično djelovanje se odnosi na selekciju mikroorganizama

u moštu ili masulju prije početka alkoholne fermentacije. Glavi razlog sumporenja je provođenje čistog vrenja, odnosno inaktiviranje divljih kvasaca vrste *Kloeckera apiculata*, koje su znatno osjetljivije na sumporov dioksid nego kvasci roda *Saccharomyces*.

Dodani sumporov dioksid inaktivira oksidacijske enzime i sprječava enzimske oksidacije u moštu. Sumporov dioksid se u moštu i vinu nalazi u slobodnom obliku i kao vezani SO<sub>2</sub>. Količina slobodnog i vezanog sumporovog dioksida u vinu se nalazi u stanju dinamičke ravnoteže. Slobodni sumporov dioksid se s vremenom smanjuje jer oksidira i hlapi. Kiselijska vina s nižom pH vrijednosti treba manje sumporiti. Nakon sumporenja, dolazi do vezanja sumporovog dioksida na šećere, acetaldehide i keto spojeve. Acetaldehid vinu daje miris i okus. Pojavljuje se već prvi dan nakon početka alkoholne fermentacije i to 20-40 mg/L. Služi kvascima kao obrana od sumporovog dioksida jer je on za njih toksičan. Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005) članak 6. i Pravilniku o izmjenama i dopunama Pravilnika o proizvodnji vina (NN 137/2008) - izmjene članka 6., ukupni sadržaj sumpornog dioksida u vinima iznosi:

- 160 mg/L kod crnih vina, od toga slobodnog najviše do 30 mg/L,

ukupni sadržaj sumpornog dioksida kod vina s ostatkom šećera većim od 5 g/L, izraženo kao invertni šećer, može biti:

- 210 mg/L kod crnih vina, od toga slobodnog najviše do 40 mg/L.

### 3.4. Bakterije

Jednostanični organizmi koji svojim metabolizmom mogu razgrađivati jedan ili više sastojaka vina. Za proizvodnju vina bitne su mliječne i octene bakterije.

Mliječno-kisele bakterije mogu provoditi razgradnju jabučne kiseline u mliječnu. Mogu biti aerobi i anaerobi. Najznačajnija vrsta je *Oenococcus oeni* koja spada u malolaktične bakterije. Kako bi uspješno provela razgradnju jabučne kiseline, mora imati dovoljno nutrijenata u vinu ili moštu. Poput kvasaca, bakterije trebaju dušik. Većinu potrebnih hranjivih tvari osiguravaju nakon autolize mrtvih stanica kvasaca. Jedan od bitnijih čimbenika za metabolizam mliječno-kiselih bakterija je pH. Sulfiti sprječavaju razvoj mliječno-kiselih bakterija, pa u vinu u kojem ima sumporovodika, malolaktična fermentacija neće ni početi (Grba, 2010.).

Octene bakterije su aerobi i uzročnici bolesti vina koje nazivamo octikavost. Imaju oksidativni metabolizam, toleriraju niske pH vrijednosti te im bolje odgovara manja koncentracija alkohola. Octikavost je jedna od najopasnijih bolesti vina. Bakterije roda

*Acetobacter* su aerobni mikroorganizmi koji uz veliku dodirnu površinu vina sa zrakom i pri višim temperaturama, oksidiraju alkohol u octenu kiselinu, a vino sadrži poveću koncentraciju etil-acetata. Javlja se kod prekida fermentacije zbog visokih temperatura. Octikavo vino se najčešće ne može izliječiti (Herjavec, 2019.).

### 3.5. Vino

Vino sorte Cabernet sauvignon ubraja se među najpoznatija crna vina u svijetu. Često se miješa s drugim sortama radi održavanja stalne kakvoće vina. Daje osebujna, taninska vina koja dugo stare (pet do deset godina). Uobičajeno je starenje u bačvi 18 mjeseci prije stavljanja u boce. Specifičnog i prepoznatljivog okusa i mirisa s rubinskocrvenom bojom. To je suho vino, srednje jako do jako, uz dovoljno kiseline. Krasi ga dobro razvijena svojstvena aroma. Može poprimiti karakteristike okusa poput duhana, cedrovine, višnje i crnog ribiza. Posebno se slaže uz pečeno crveno meso (Law, 2006.).

Proizvodi se u kategoriji vrhunskog i kvalitetnog vina s kontroliranim porijeklom kao crno i ružičasto vino. Sadržaj alkohola kreće se od 9,5 do 12.3% vol. (a često i više), ukupnog ekstrakta od 18,0 do 26,1 g/l, ukupne kiseline od 5,0 do 7,4 g/l, glicerola od 7,5 do 9,5 g/l. Poslužuje se na 15 do 18 °C (Zoričić, 2013.).

### 3.6. Provedba pokusa

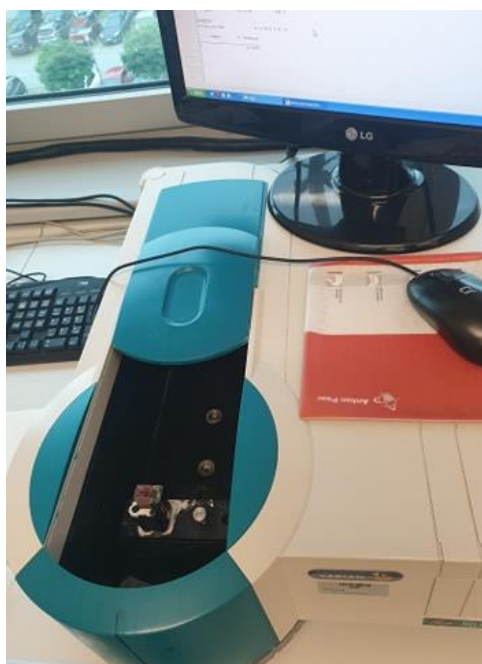
Istraživanje je provedeno 2019. godine na kultivaru Cabernet sauvignon na fakultetskom pokušalištu u Mandićevcu, koje se nalazi na istočnom području podregije Slavonija. Berba je obavljena u stadiju tehnološke zrelosti grožđa uz dnevnu temperaturu zraka između 14 i 16 °C. Masulj je raspoređen u devet inoks posuda, gdje su po tri posude predstavljale jedan kvasac. Istraživanje je obuhvatilo sadržaj ukupnih antocijana, sadržaj šećera i pH vrijednosti u razdoblju od 07.10.2019. do 10.06.2020. Nakon dobivenih rezultata, za svaki ispitan kvasac izračunata je srednja vrijednost te je obavljena analiza varijance po slučajnom blok sustavu za neka svojstva.



Slika 8. Uzorci za ispitivanje, Autor, 2019.

### 3.6.1. Određivanje ukupnog sadržaja antocijana

Za određivanje ukupnog sadržaja antocijana koristi se spektrofotometar. Signal maksimuma apsorpcije antocijana postiže se pri valnoj duljini od 540 nm u otapalu. Mjerenje pri ovoj valnoj duljini smanjuje pogreške u procjeni sastava pigmenta. Za mjerenje je potrebno imati apsorbanciju u rasponu od 0,3 do 0,7. Prihvatljiva vrijednost apsorbancije je do 1. U slučaju veće vrijednosti apsorbancije, potrebno je razrijediti ekstrakt kloridnim etanolom, dok mjerenje nije u potrebnom rasponu apsorbancije. Vrijednost ukupnih antocijana je izražena kao mg/l malvidin-3-*O*-glukozida umnažanjem absorbance s koeficijentom 16,7.



Slika 9. Spektrofotometar, Autor, 2020.

### 3.6.2. Određivanje sadržaja šećera

Za određivanje sadržaja šećera koristi se refraktometar. Njegov rad se zasniva na prelamanju svjetlosti koja prolazi kroz sloj uzorka. Veličina kuta pod kojim se svjetlost lomi zavisi od gustoće uzorka. Lom svjetla se na skali refraktometra vidi u obliku manjeg ili većeg stupca sjene. Na mjesto za postavljanje uzorka kapaljkom se stavi par kapi uzorka i sačeka nekoliko sekundi. Rezultat se izražava u °Oe.



Slika 10. Refraktometar, Autor, 2020.

### 3.6.3. Određivanje pH vrijednosti

Prije samog početka određivanja pH vrijednosti, pH metar je potrebno kalibrirati. U posudu se ulije destilirana voda, te se obje elektrode uranjaju unutra. Nakon završenog kalibriranja, u čistu posudu se ulije uzorak i uranjaju se obje elektrode. Nakon par sekundi dobije se očitavanje na ekranu. U novijim modelima pH metra prikazuju se i trenutne temperature uzorka.





Slika 11. pH metar, Autor, 2020.

#### 4. REZULTATI

Nakon provedenih istraživanja i obavljenih testova, rezultati za sadržaj ukupnih antocijana sadržaj šećera i pH vrijednosti prikazane su u Tablicama 1. i 2.

Tablica 1. Rezultati istraživanja za sadržaj ukupnih antocijana u moštu i vinu

	Antocijani (mg/l)		
	Lalvin ICV D254	Anchor Alchemy IV	Lalvin EC 1118
7.10.	128,69	111,56	109,40
	129,54	104,85	115,61
	115,37	107,33	104,92
$\bar{X}$	124,53	107,91	109,98
13.10.	137,64	141,83	133,94
	110,52	125,91	131,93
	136,54	131,20	160,67
$\bar{X}$	128,23	132,98	142,18
15.10.	144,44	136,33	138,87
	168,28	147,02	148,29
	139,91	173,41	130,08
$\bar{X}$	150,88	152,25	139,08
16.10.	136,39	138,83	129,43
	140,36	136,50	136,72
	138,01	134,30	140,98
$\bar{X}$	138,25	136,54	135,71
10.06.	135,53	131,72	133,81
	129,49	130,53	130,96
	133,07	127,79	138,94
$\bar{X}$	132,70	103,01	134,57

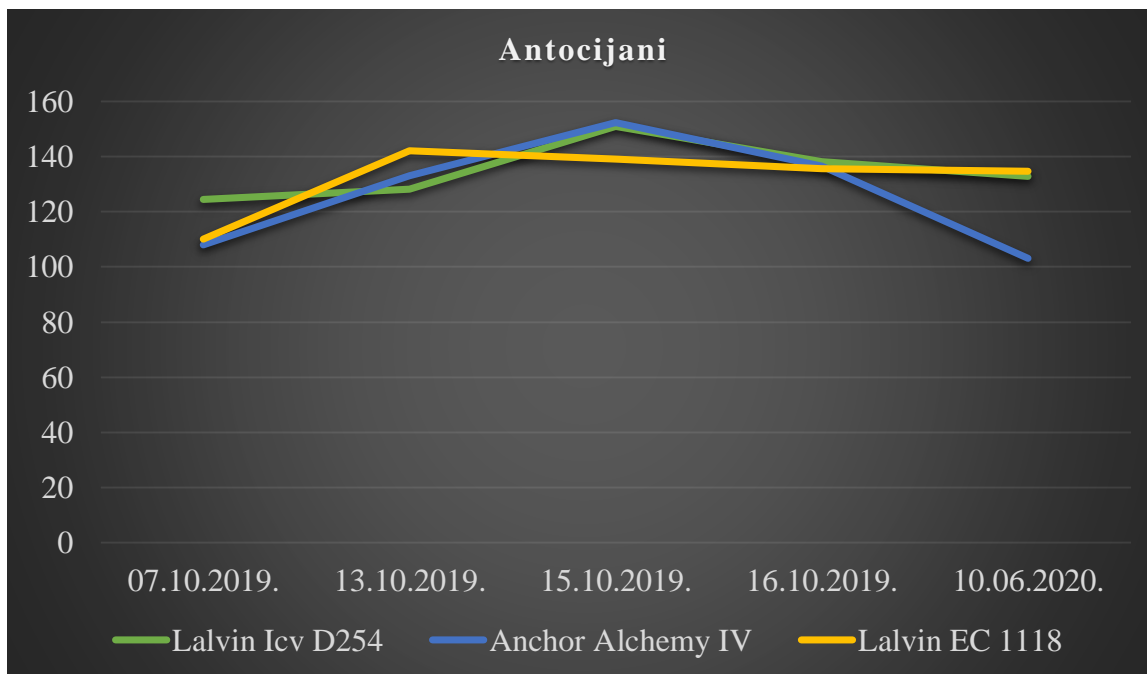
Tablica 2. Rezultati istraživanja za sadržaj šećera i pH vrijednost u moštu i vinu

	Šećeri (°Oe)			pH		
	Lalvin ICV D254	Anchor Alchemy IV	Lalvin EC 1118	Lalvin ICV D254	Anchor Alchemy IV	Lalvin EC 1118
7.10.	100	98	98	3,22	3,25	3,17
	101	96	98	3,19	3,23	3,11
	99	97	98	3,17	3,22	3,12
$\bar{X}$	100,00	97,00	98,00	3,19	3,23	3,13
13.10.	88	90	82	3,44	3,62	3,55
	72	83	82	3,49	3,53	3,48
	91	84	83	3,56	3,54	3,45
$\bar{X}$	83,67	85,67	82,33	3,50	3,56	3,49
15.10.	77	75	65	3,46	3,58	3,57
	71	70	66	3,47	3,54	3,52
	74	65	69	3,55	3,59	3,46
$\bar{X}$	74,00	70,00	66,67	3,49	3,57	3,52
16.10.	59	50	38	3,44	3,57	3,52
	53	56	54	3,42	3,54	3,46
	61	60	50	3,56	3,57	3,49
$\bar{X}$	57,67	55,33	47,33	3,47	3,56	3,49
10.06.	33	31	31	3,48	3,65	3,62
	32	31	31	3,49	3,64	3,53
	31	31	31	3,59	3,63	3,47
$\bar{X}$	32,00	31,00	31,00	3,52	3,64	3,54

#### 4.1. Sadržaj ukupnih antocijana u moštu i vinu

Na Grafikonu 1. prikazane su srednje vrijednosti ukupnih antocijana u moštu i vinu. Vidljivo je kako se srednja vrijednost ukupnih antocijana s početkom fermentacije (07.10.2019.) kreće u rasponu od 107,91 mg/l za kvasac Anchor Alchemy IV do 124,52 mg/l za kvasac Lalvin ICV D254, dok je Lalvin EC 1118 imao srednju vrijednost od 109,98 mg/L. Tijekom procesa fermentacije, srednje vrijednosti ukupnih antocijana variraju te je na datum 15.10.2019. njihova vrijednost iznosila 150,88 mg/l za Lalvin ICV D254, 152,25 mg/l za Anchor Alchemy IV te 139,08 mg/l za Lalvin EC 1118. U zadnjem mjerenju, nakon bujne fermentacije (16.10.2019.), vidljivo je kako je sadržaj ukupnih antocijana najmanji kod

kvasca Lalvin EC 1118 te prosječno iznosi 135,71 mg/l, Ancor Alchemy IV 136,54 mg/l, dok je najveći kod Lalvin ICV D254 te iznosi 134,57 mg/l.



Grafikon 1. Srednje vrijednosti ukupnih antocijana u moštu i vinu (mg/l)

Da bi se utvrdila razlika između primijenjenih kvasaca u oslobađanju antocijana, provedena je analiza varijance za razlike od početka fermentacije do kraja bujne fermentacije (07.10.2019.-16.10.2019.).

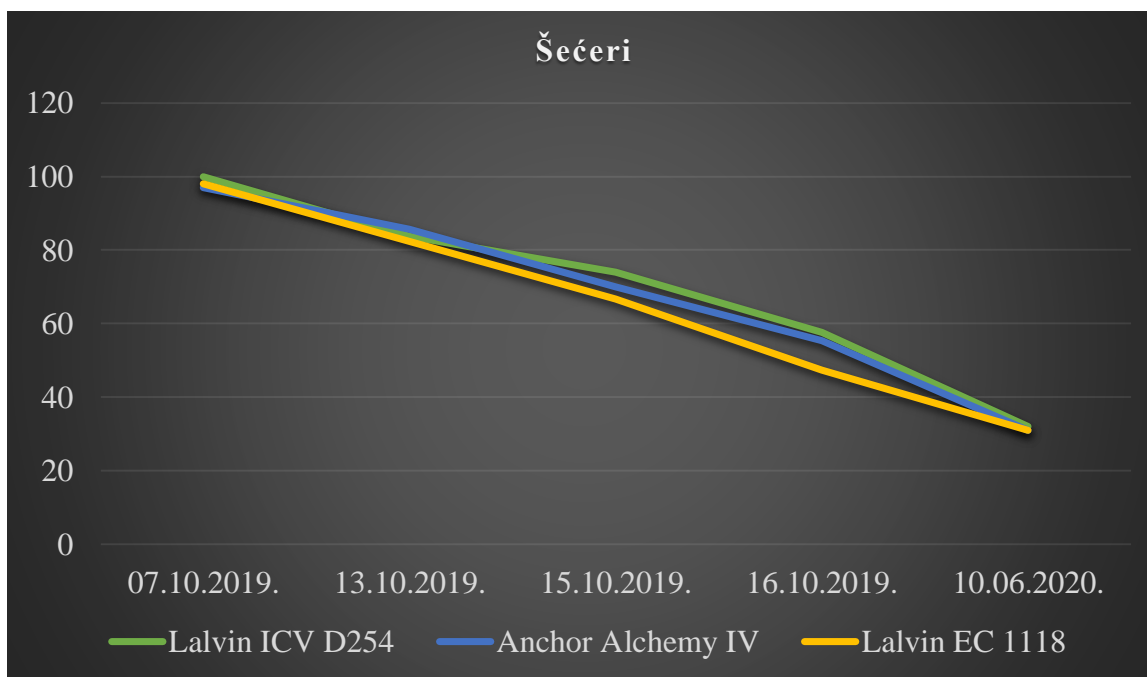
Tablica 3. Analiza varijance za ukupne antocijane

Analiza varijance za ukupne antocijane					F tablično	
Izvor varijacije	Stupnjevi slobode	Suma kvadrata	Sredina kvadrata	F-test	0,05	0,01
Blokovi	2	166,92	83,46	2,54	6,94	17,99
Tretman	2	375,02	187,51	5,70 <sup>n.s.</sup>		
Pogreška	4	131,56	32,89			
Ukupno	8	673,5				

Analizom varijance utvrđeno je da ne postoje razlike između primijenjenih kvasaca i oslobođene količine ukupnih antocijana.

#### 4.2. Sadržaj šećera u moštu i vinu

Na Grafikonu 2. prikazane su srednje vrijednosti za sadržaj šećera u moštu i vinu. Vidljivo je kako se srednja vrijednost sadržaja šećera u moštu s datumom 07.10.2019. kretala u rasponu od 97 °Oe za kvasac Anchor Alchemy IV do 100 °Oe za kvasac Lalvin ICV D254 dok je Lalvin EC 1118 imao srednju vrijednost od 98 °Oe. Tijekom procesa fermentacije, srednje vrijednosti opadaju, te je na datum 15.10.2019. njihova vrijednost iznosila 74,00 °Oe za Lalvin ICV D254, 70,00 °Oe za Anchor Alchemy IV te 66,67 °Oe za Lalvin EC 1118. U zadnjem mjerenju nakon burne fermentacije (16.10.2019.) sadržaj šećera za kvasac Anchor Alchemy IV iznosi prosječno 55,33 °Oe, Lalvin EC 1118 iznosi 47,33 °Oe, a za Lalvin ICV D254 iznosi 57,67 °Oe.



Grafikon 2. Srednje vrijednosti sadržaja šećera u moštu i vinu (°Oe)

Da bismo utvrdili koji primijenjeni kvasac najbrže previre šećere u navedenom razdoblju (07.10.2019.-16.10.2019.) napravljena je analiza varijance.

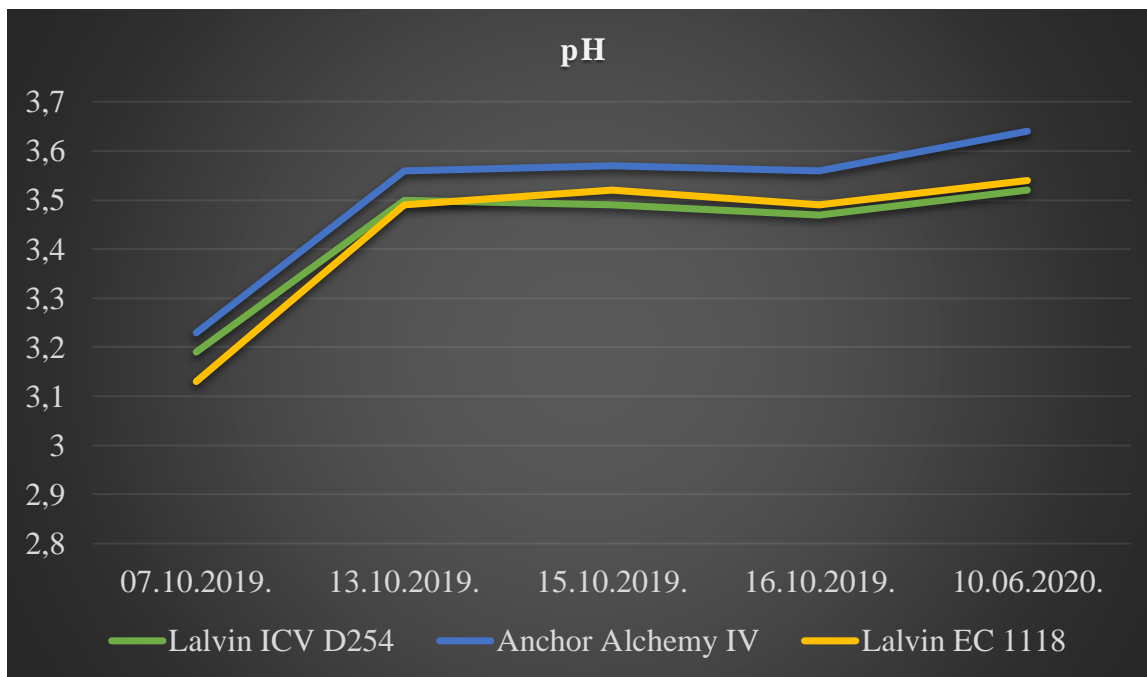
Tablica 4. Analiza varijance sadržaja šećera u moštu i vinu

Analiza varijance sadržaja šećera					F tablično	
Izvor varijacije	Stupnjevi slobode	Suma kvadrata	Sredina kvadrata	F-test	<b>0,05</b>	<b>0,01</b>
					6,94	17,99
Blokovi	2	116,22	58,11	1,66		
Tretman	2	150,89	75,45	2,16 <sup>n.s.</sup>		
Pogreška	4	139,78	34,95			
Ukupno	8	406,89				

Analizom varijance utvrđeno je da ne postoje statistički značajne razlike između primijenjenih kvasaca u brzini previranja šećera.

#### 4.3. Realni aciditet u moštu i vinu (pH)

Na Grafikonu 3. prikazane su srednje vrijednosti pH u moštu i vinu. Vidljivo je kako se srednja vrijednost pH u moštu s datumom 07.10. kreće u rasponu od 3,13 za kvasac Lalvin EC 1118 do 3,23 za kvasac Anchor Alchemy IV, dok je Lalvin ICV D254 imao srednju vrijednost od 3,19. Tijekom procesa fermentacije, srednje vrijednosti pH rastu te je na datum 15.10. njihova vrijednost iznosila 3,49 za Lalvin ICV D254, 3,57 za Anchor Alchemy IV te 3,52 za Lalvin EC 1118. U zadnjem mjerenju nakon burne fermentacije (16.10.2019.) vidljivo je kako je sadržaj pH najmanji kod kvasca Lalvin ICV D254 te iznosi 3,52, dok je najveći kod Anchor Alchemy IV te iznosi 3,64.



Grafikon 3. Srednje vrijednosti pH u moštu i vinu

Da bi utvrdili da li kvasci utječu na promjenu pH vrijednosti u moštu i vinu provedena je analiza varijance.

Tablica 5. Analiza varijance vrijednosti pH u moštu i vinu

Analiza varijance pH vrijednosti					F tablično	
Izvor varijacije	Stupnjevi slobode	Suma kvadrata	Sredina kvadrata	F-test	0,05	0,01
Blokovi	2	0,0107	0,0054	2,4545	6,94	17,99
Tretman	2	0,0089	0,0045	2,0454 <sup>n.s.</sup>		
Pogreška	4	0,0087	0,0022			
Ukupno	8	0,0283				

Analizom varijance nije utvrđen statistički značajan utjecaj primijenjenih kvasaca na pH vrijednost.

#### 4.4. Sadržaj ukupnih antocijana, šećera i pH vrijednost vina

Zadnje mjerenje istraživanih parametara provedeno je u gotovom vinu nakon 8 mjeseci. Neznatno se smanjio sadržaj antocijana, što je posljedica prelaska antocijana u netopive oblike i pri tom dolazi do njihovog taloženja.

Dobiveno je u potpunosti suho vino (izmjerene vrijednosti za Lalvin ICV D254 iznose 32 °Oe, Anchor Alchemy IV 31 °Oe, a za Lalvin EC 1118 31 °Oe).

pH vrijednosti vina koje je nastalo korištenjem različitih sojeva kvasaca, neznatno su se razlikovale, što je vjerojatno posljedica različite brzine neutralizacije i taloženja organskih kiselina tijekom vremena.



## 5. RASPRAVA

Pokus je postavljen na pokušalištu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek u Mandićevcu 2019. godine. Parametri koji su se proučavali su sadržaj ukupnih antocijana, sadržaj šećera te pH vrijednost. Cilj rada bio je utvrditi utjecaj različitih sojeva kvasaca na fermentaciju mošta i kvalitetu vina. Kvasci koji su se koristili su Lalvin ICV D254, Anchor Alchemy IV i Lalvin EC 1118.

Između primijenjenih kvasaca nije bilo statistički značajne razlike glede ekstrakcije brzine konverzije šećera i promjene pH vrijednosti. Slično istraživanje provodili su Plavša i Kovačević-Ganić (2011.) na sortama Teran i Cabernet sauvignon. Kvasci koje su koristili su Uvaferm BDX, D254 i Fermol Premier Cru. Njihovo istraživanje također dovodi do zaključka da primijenjeni kvasci nisu statistički značajno utjecali na brzinu fermentacije i promjenu pH vrijednosti.

Odabir sojeva kvasaca prilikom proizvodnje vina je vrlo bitan, jer ne daju svi kvasci poželjne karakteristike vina. Kvasci koji nisu roda *Saccharomyces* imaju učinkovitu koverziju šećera, pojačanu proizvodnju poželjnih hlapivih estera i proizvodnju glicerola za poboljšanje okusa vina. Do navedenog zaključka došli su Mateo i Maicas (2016.).

Čus i Jenko (2013.) proveli su istraživanje o utjecaju sojeva kvasaca *Saccharomyces* i *Torulaspora delbrueckii* na moštu i vinu sorte Traminac. Vino dobiveno fermentacijom sojeva *Saccharomyces* nije dalo statistički značajne razlike na ispitivane parametre. Međutim, navode kako upotreba *Torulaspora delbrueckii* daje sporiju fermentaciju i statistički značajne razlike glede sadržaja šećera i pH vrijednosti. Navode kako je najbolja kvaliteta vina postignuta kombinacijom navedenih sojeva.

Za boju vina odgovorni su antocijani. Morata i sur. (2016.) navode kako se boja vina starenjem mijenja iz crveno-plave u crveno-narančastu boju. Tijekom starenje antocijani se zamjenjuju polimernim pigmentima koji su odgovorni za 50% gustoće boje nakon prve godine.

Topić-Božić i sur. (2019.) navode kako prilikom odabira sojeva kvasaca treba uzeti u obzir da moguće poboljšanje jedne karakteristike vina može imati štetan učinak na ostala svojstva vina, što u ovom istraživanju nije slučaj. Također, kombinacija različitih sojeva kvasaca može pridonijeti boljim organoleptičkim karakteristikama vina.

## 6. ZAKLJUČAK

Na osnovu prethodno navedenoga može se zaključiti sljedeće:

- Pokus s primjenom različitih sojeva kvasaca (Lalvin ICV D254, Anchor Alchemy, Lalvin EC1118) na kultivaru Cabernet sauvignon proveden je 2019. godine na fakultetskom pokušalištu u Mandićevcu i laboratoriju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.
- Pokus se sastojao od tri tretmana, a svaki tretman bio je u tri ponavljanja.
- Istraživan je utjecaj kvasaca na sadržaj ukupnih antocijana, brzinu previranja šećera i pH vrijednost mošta i vina.
- Najviše ukupnih antocijana ekstrahirao je kvasac Anchor Alchemy IV, ali razlike između pojedinih kvasaca nisu statistički značajne.
- Najbrže previranje šećera išlo je uz primjenu kvasca Lalvin EC 1118, ali statistički značajne razlike nisu utvrđene između pojedinih sojeva.
- Na pH vrijednost mošta i vina nisu utjecali primijenjeni kvasci.
- Do neznatnog povećanja pH vrijednosti i smanjenja ukupnih antocijana u vinu došlo je zbog neutralizacije i taloženja tijekom vremena.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Čus, F., Jenko, M. (2013.) Influence of Yeast on Quality of Gewürztraminer Wine; Food Technol, Biotechnol, Ljubljana 51 (4): 547-553
2. Gognies, S., Belarbi, A., Ait Barka, S. (2001.) *Saccharomyces cerevisiae*, a potential pathogen towards grapevine, *Vitis vinifera*; FEMS Microbiology Ecology, 37 (2): 143-150
3. Grba, S. (2010.) Kvasci u biotehnoškoj proizvodnji; Plejada, Zagreb
4. Herjavec, S. (2019.) Vinarstvo; Nakladni zavod globus, Zagreb
5. Law, J. (2006.) Od vinograda do vina, Priručnik za uzgoj grožđa i proizvodnju vina; Veble commerce, Zagreb
6. Mateo, J.J., Maicas, S. (2016.) Application of Non-*Saccharomyces* Yeast to Wine-Making Process; Department de Microbiologia i Ecologia, Universitat de València, Burjassot 2 (14): 1-13
7. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2008.) Vinova loza; Školska knjiga, Zagreb
8. Mina, M., Tsaltas, D. (2017.) Contribution of Yeast and Wine Aroma and Flavour; Cyprus University of Technology, Limassol 5: 118-134
9. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008.) Vinogradarstvo; Nakladni zavod Globus, Zagreb
10. Mirošević, N., Turković, Z. (2003.) Ampelografski atlas; Golden marketing-tehnička knjiga
11. Morata, A., Iris, L., Suárez Lepe, J.A. (2016.) Influence of Yeasts in Wine Colour; Department of Chemistry and Food Technology, Technical University of Madrid, Madrid 13: 286-305
12. Pei-Tong, L., Lin, L., Chang-Qing, D., Guo-Liang, Y. (2016.) The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation; Centre for Viticulture and Enology, College of Food Science and Nutritional Engineering, Beijing 71: 356-363
13. Plavša, T., Kovačević-Ganić, K. (2011.) Utjecaj komercijalnih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*) na antocijanski profil vina Teran i Cabernet sauvignon; Glasnik Zaštite bilja, 34 (4): 82-87
14. Ponzzes-Gomes, C., Melo, D., Santana, C., Pereira, G., Mendonca, M., Gomes, F., Oliveira, E., Barbosa, A., Trindade, R., Rosa, C. (2014.) *Saccharomyces cerevisiae* and

- non-Saccharomyces* yeasts in grape varieties of the São Francisco Valley; Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo 45 (2): 411-416
15. Radovanović, V. (1970.) Tehnologija vina; Univerzitet u Beogradu, Izdavačko preduzeće građevinska knjiga, Beograd
  16. Simon, J. (2006.) Velika knjiga o vinu; Profil knjiga, Zagreb
  17. Topić Božić, J., Korte, D., Butinar, L., Mozetič Vodopivec, L. (2019.) Yeast and wine colour; University of Nova Gorica, Wine Research Centre, Vipava 11 (2): 291-302
  18. Vilela, A. (2020.) Modulating Wine Pleasantness Throughout Wine-Yeast Co-Inoculation or Sequential Inoculation; Department of Biology and Environment, Vila Real 6 (22): 1-19
  19. Zoričić, M. (2013.) Vinogradarsko vinarski priručnik 2. izdanje; Slobodna Dalmacija, Split
  20. Žunić, D., Matijašević, S. (2009.) Podizanje nasada vinove loze; PZ AGRO-HIT, Bjelovar

Internetski izvori:

21. [www.pavin.hr](http://www.pavin.hr)
22. [www.vinoartis.hr](http://www.vinoartis.hr)
23. [www.narodne-novine.nn.hr](http://www.narodne-novine.nn.hr)

## 8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih sojeva kvasaca na fermentaciju mošta i kvalitetu vina kultivara Cabernet sauvignon. Parametri koji su proučavani su ukupni antocijani, sadržaj šećera i pH vrijednost. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu s tri tretmana u tri ponavljanja. Na istraživane pokazatelje primijenjeni kvasci nisu imali statistički značajan utjecaj.

Ključne riječi: *Cabernet sauvignon, kvasci, vino, ukupni antocijani, sadržaj šećera, pH vrijednost*

## 9. SUMMARY

The aim of this study was to determine the influence of different yeast strains on must fermentation and wine quality of Cabernet sauvignon cultivars. The parameters studied were total anthocyanins, sugar content and pH value. The experiment was set up on a randomized block design with three treatments in three replicates. The applied yeasts did not have a statistically significant effect on the investigated indicators.

**Keywords:** *Cabernet sauvignon, yeasts, wine, total anthocyanins, sugar content, pH value*

## 10. POPIS TABLICA

<b>Tablica br.</b>	<b>Naziv</b>	<b>Stranica</b>
Tablica 1	Rezultati istraživanja za sadržaj ukupnih antocijana u moštu i vinu	21
Tablica 2	Rezultati istraživanja za sadržaj šećera i pH vrijednost u moštu i vinu	22
Tablica 3	Analiza varijance za ukupne antocijane	23
Tablica 4	Analiza varijance sadržaja šećera u moštu i vinu	25
Tablica 5	Analiza varijance vrijednosti pH u moštu i vinu	26

## 11. POPIS SLIKA

<b>Slika br.</b>	<b>Naziv</b>	<b>Stranica</b>
Slika 1	Cabernet sauvignon	5
Slika 2	Kvasac Lalvin ICV D254	7
Slika 3	Kvasac Anchor Alchemy IV	8
Slika 4	Kvasac Lalvin EC 1118	9
Slika 5	Eksperimentalni uzorci u transportu	9
Slika 6	Postupak muljanja i masulj	13
Slika 7	Preša	15
Slika 8	Uzorci za analizu	18
Slika 9	Spektrofotometar	18
Slika 10	Refraktometar	19
Slika 11	pH metar	20



## 12. POPIS GRAFIKONA

<b>Grafikon br.</b>	<b>Naziv</b>	<b>Stranica</b>
Grafikon 1	Srednje vrijednosti ukupnih antocijana u moštu i vinu (mg/l)	23
Grafikon 2	Srednje vrijednosti sadržaja šećera u moštu i vinu (°Oe)	24
Grafikon 3	Srednje vrijednosti pH u moštu i vinu	26

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

### **UTJECAJ RAZLIČITIH SOJEVA KVASACA (*Saccharomyces cerevisiae*) NA FERMENTACIJU MOŠTA I KVALITETU VINA SORTE CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

**Danijel Juranić**

**Sažetak:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih sojeva kvasaca na fermentaciju mošta i kvalitetu vina kultivara Cabernet sauvignon. Parametri koji su proučavani su ukupni antocijani, sadržaj šećera i pH vrijednost. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu s tri tretmana u tri ponavljanja. Na istraživane pokazatelje primijenjeni kvasci nisu imali statistički značajan utjecaj.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** Vladimir Jukić

**Broj stranica:** 36

**Broj grafikona i slika:** 14

**Broj tablica:** 5

**Broj literaturnih navoda:** 23

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** Cabernet sauvignon, kvasci, vino, ukupni antocijani, sadržaj šećera, pH vrijednost

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, predsjednik

2. izv. prof. dr. sc. Vladimir Jukić, mentor

3. prof. dr. sc. Borislav Miličević, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agrobiotechnical University of Osijek

University Graduate Studies, course Viticulture and winemaking

### **THE IMPACT OF DIFFERENT YEAST SPECIES (*Saccharomyces cerevisiae*), ON THE MUST FERMENTATION AND WINE QUALITY OF CULTIVAR CABERNET SAUVIGNON (*Vitis vinifera* L.)**

**Danijel Juranić**

**Abstract:** The aim of this study was to determine the influence of different yeast strains on must fermentation and wine quality of Cabernet sauvignon cultivars. The parameters studied were total anthocyanins, sugar content and pH value. The experiment was set up on a randomized block design with three treatments in three replicates. The applied yeasts did not have a statistically significant effect on the investigated indicators.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** Vladimir Jukić

**Number of pages:** 36

**Number of figures:** 14

**Number of tables:** 5

**Number of references:** 23

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** Cabernet sauvignon, yeasts, wine, total anthocyanins, sugar content, pH value

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, president

2. izv. prof. dr. sc. Vladimir Jukić, supervisor

3. prof. dr. sc. Borislav Miličević, member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.