

# Bolesti vinove loze i njihov utjecaj na fermentaciju i kvalitetu vina

---

Mejaš, Jasmina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:595500>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



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

**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Jasmina Mejaš, apsolvent

Diplomski studij Vinogradarstva i vinarstva

**BOLESTI VINOVE LOZE I NJIHOV UTJECAJ NA FERMENTACIJU I  
KVALITETU VINA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2016.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Jasmina Mejaš, absolvent

Diplomski studij Vinogradarstva i vinarstva

**BOLESTI VINOVE LOZE I NJIHOV UTJECAJ NA FERMENTACIJU I  
KVALITETU VINA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Aleksandar Stanisavljević, član
4. Doc.dr.sc. Sanda Rašić, zamjenski član

**Osijek, 2016.**

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Bolesti vinove loze .....	2
2.1. Plamenjača vinove loze ( <i>Plasmopora viticola</i> ) .....	2
2.2. Pepelnica ( <i>Uncinula necator</i> ) .....	3
2.3. Siva plijesan ( <i>Botrytis cinerea</i> ).....	4
2.4. Crna pjegavost rozgve ( <i>Phomopsis viticola</i> ) .....	6
2.5. Žutica vinove loze.....	6
2.6. Sušica cvata i grozdica vinove loze .....	8
2.7. Crvena palež, crvenilo lišća ( <i>Pseudopeziza tracheiphila</i> ) .....	9
3. Alkoholna fermentacija .....	10
3.1. Glikoliza.....	11
3.2. Sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije .....	15
4. Rehidracija kvasca.....	16
5. Selekcionirani vinski kvasac .....	18
6. Enzimi.....	21
7. Potpuno i djelomično "čisto" vrenje .....	21
7.1. Uzroci zastoja fermentacije .....	22
8. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	24
8.1. Građa stanične stijenke .....	24
9. Polisaharidi stanične stijenke.....	25
9.1. Glukan.....	25
9.2. Hitin .....	25
9.3. Manan .....	26
9.4. Proteini stanične stijenke .....	26
10. <i>Brettanomyces</i> uzročnik kvarenja vina.....	27
10.1. Otporan na sumpor.....	28

10.2. Izvor zaraze .....	29
10.3. Mjere uklanjanja .....	29
10.4. Mikrooksigenacija vina.....	30
11. Bolesti vina.....	32
11.1. Sluzavost.....	32
11.2. Vinski cvijet.....	32
11.3. Octikavost ili Ciknutost .....	33
11.4. Mliječno ili manitno vrenje.....	34
11.5. Zavrelica .....	35
12. Zaključak .....	36
13. Popis literature.....	37
14. Sažetak.....	40
15. Summary.....	41
16. Popis slika.....	42

## 1. Uvod

Unatoč provođenju zaštite procjenjuje se da posljednjih desetljeća u našoj zemlji gljivične bolesti unište gotovo jednu trećinu grožđa. Česta promjena klime popraćena je intenzivnijem razvoju određenih bolesti odnosno štetnika. Siva plijesan (*Botrytis cinerea*) ima direktne i indirektne štete, direktne nastaju zbog smanjena uroda koje u prosjeku iznose 3 do 15% iako u vlažnim godinama mogu biti puno veće. Indirektne štete kao loša kakvoća mošta ima miris po plijesni, odnosno vina su podložna brzom i jakom promjeni boje, pa vinifikacija pljesnivog grožđa zahtjeva veći utrošak sumpora. Posebna pozornost tijekom alkoholne fermentacije obraćena je na vinski selekcionirani kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, koji ima najvažniju ulogu u proizvodnji kvalitetnih vina. Fermentacija koja nije pokrenuta selekcioniranim kvascem, podložna je raznim štetnim utjecajima sojeva kvasaca i bakterija koji se nalaze prirodno na mašku bobice. Najčešće dolazi do aktivacije rada octenih bakterija, koje pretvaraju šećer u hlapivu octenu kiselinu. Također se u fermentaciji može javiti kvasac *Brettanomyces* koji direktno utječe na kvalitetu vina.

## 2. Bolesti vinove loze

### 2.1. Plamenjača vinove loze (*Plasmopora viticola*)

#### Simptomi:

Bolest napada sve zelene organe vinove loze, najčešće je napadnut list i boba, rjeđe cvijet, a vrlo rijetko vitice i mladica (Maceljski i Cvjetković, 2006.). Simptomi variraju s obzirom na temperaturu koja vlada u vinogradu za vrijeme inkubacije. Ako nakon infekcije nastupe optimalne temperature 21-24°C, tada je razdoblje inkubacije vrlo kratko i traje 4-5 dana. U takvim uvjetima na naličju naizgled zdravog zelenog dijela plojke nastaju sporonosni organi i zoosporangiji u obliku prljavo bijelih nakupina bez prethodne pojave simptoma poznatog pod nazivom "uljna mrlja".

Kod prosječnih temperatura od 13,5 do 16°C inkubacija traje od 7 do 10 dana u tom periodu na plojci lista nastaju nešto svjetlije zelene do žute ovalne zone. Za takav simptom rabi se naziv "uljna mrlja". Ako se nakon pojave "uljnih mrlja" temperatura naglo podigne pojava sporonosnih organa može se odgoditi. Kod kasnih sekundarnih zaraza na starim listovima nastaju žuta do crvenkasta polja. Zaražena zona lista iz primarne i sekundarne zaraze počinje smeđiti, a tkivo odumire i suši se. Defolijacija nastupa krajem srpnja pa čokot ostaje s manje listova.

Životnom ciklusu parazita ne smetaju niske temperature zimi i do minus 26°C zadržava klijavost spora, to znači da niske temperature ne utječu na prezimljavanje gljive. Spore kliju u proljeće nakon što se tlo zagrije na 8 do 10°C, a istovremeno u jednom danu mora pasti više od 10mm oborina (Cvjetković, 2010.). Prema srednjim dnevnim temperaturama izračunava se vrijeme trajanja inkubacije bolesti.



**Slika 1.** Spore plamenjače na naličju vinove loze.

Izvor: <http://jule.pflanzenbestimmung.de/plasmopara-viticola/>

## **2.2. Pepelnica (*Uncinula necator*)**

### **Simptomi:**

Bolesti se očituju na svim zelenim dijelovima vinove loze : mladicama, viticama, listovima, peteljka lista, cvatu, bobama i rozgvi (Cvjetković, 2010.). Za ranih zaraza iz pupova zaraženi su prvi listovi, a mladica je presvučena pepeljastom prevlakom. Listovi mogu biti napadnuti u svakoj fazi razvoja, od tek otvorenih do potpuno razvijenih listova. Na licu zaražene plojke nastaje bjelkasta prevlaka, ovalna ili eliptičnih kontura. Prevlaku tvore miceliji i oidije.

Najočitije štete nastaju na bubama, nakon oplodnje kada boba dosegnu 2-3 milimetra u promjeru, mogu biti potpuno pokrivena pepeljastim maškom, koji potječe od micelija i oidija. Bobe zaražene u fazi aktivnog rasta zbog unutrašnjeg pritiska puca epiderma i nastaju duboke pukotine koje dosežu sve do sjemenki. Uz pepeljastu prevlaku, to je najkarakterističniji simptom pepelnice (Cvjetković, 2010.).



## Biologija parazita:

Uzročnik pepelnice prezimljava na dva načina: kao miceliji i oidije u pupovima zaraženih čokota., te pomoću plodnih tijela koji se nazivaju kleistoteciji. Ako je parazit zaštićen u pupu može dulje podnijeti temperature do oko -15 °C, pogodne su temperature od -21 °C u trajanju većim od 5 sati. Oidije i miceliji koji su prezimili u pupu počnu se umnožavati kad se temperature popnu iznad 5,6 °C. optimalne temperature za stvaranje oidija su od 25 do 28°C, pri višim temperaturama od 30°C, oidije se prestaju umnožavati, a ugibaju pri 40°C. Za razliku od plamenjače oidije nemaju nikakve potrebe za kapima vode (Maceljski i Cvjetković, 2006.).



**Slika 2.** Pepelnica na bobicama vinove loze

Izvor: <http://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/grape.aspx>

### 2.3. Siva plijesan (*Botrytis cinerea*)

Ova bolest ima direktne i indirektne štete. Direktne nastaju zbog smanjena uroda koje u prosjeku iznose 3 do 15%, iako u vlažnim godinama mogu biti puno veće. Indirektne štete su loša kakvoća mošta ima miris po plijesni, odnosno vina podložna su brzom i jakom promjeni boje, pa vinifikacija pljesnivog grožđa zahtjeva veći utrošak sumpora. Simptomi može inficirati sve zelene dijelove vinove loze listove, mladice, peteljkovinu. Daljim razvojem, gljivica razvija micelij i hifama urasta u tkivo peteljčica i

peteljki, macerira tkivo koje s vremenom nekrotizira. Zbog nekroze prekida se kolanje sokova, bobice se slabo hrane pa se smežuraju i osuše. Na listu se pojavljuje žućkasta pjega koja kasnije postaje smeđa. Ako je duže vlažno razdoblje razvijat će se siva prevlaka. Kod zelenih izboja gljiva izaziva truljenje internodija, dok kod bobica izaziva dva tipa simptoma. U pojedinim slučajevima grozdove napada rano, dok su još bobice zelene, pa one propadaju, međutim zahvaća i peteljkovina pa čak i pojedine dijelove grozda.

Drugi tip zaraze je češći. Bobice su zaražene uoči zriobe, krajem lipnja ili početkom srpnja. Pojedine bobice, ali i peteljkovina, poprimaju smeđu boju, a na njima se pojavljuje paučinasta prevlaka. Siva prevlaka se sastoji od konidija i sporskih organa gljivice (Ciglar, 1998.). *Botrytis cinerea* je polifagna gljiva, parazitira na velikom broju biljnih vrsta. Nakon odumiranja zaraženih dijelova dalje nastavlja živjeti kao saprofit. U vinogradu se nalazi na rozgvi, ispod kore, u obliku micelija ili sklerocija te osušenim listovima. Gljiva prezimljuje i u pupovima, tako da je u proljeće obilan izvor zaraze. Širi se unutar bobice enzimatskim putem, razgrađujući središnje lamele, stanice gube čvrstoću, a bobica postane mekana (Ciglar 1998.).



**Slika 3.** Siva plijesan na bobicama vinove loze

Izvor: [http://www.vitpractice.co.nz/Disease\\_gallery.html](http://www.vitpractice.co.nz/Disease_gallery.html)

## 2.4. Crna pjegavost rozgve (*Phomopsis viticola*)

Simptomi javljaju se na mladima, rozgvi i listovima. Simptomi se uočavaju tokom rezidbe. Kora postaje srebrnkasta, a piknidi i piknospore se počinju formirati kod odrvenjavanja mladice. Pupovi se kasnije otvaraju nego na zdravoj rozgvi. Obično kreću pupovi na prvim internodijima, zatim se nekoliko u sredini lucnja ne otvara, a oni na kraju lucnja prolistaju. Gljiva prezimljuje u obliku micelija u rozgvi, na čokotu ili na tlu, a pred početak vegetacije piknidi sazrijevaju. Piknospore inficiraju vinovu lozu u širokom rasponu temperature, od 1 do 37°C. Optimalne temperature za razvoj su 23°C uz 98 - 99% relativne vlage zraka. Prodor parazita je direktnom penetracijom ili preko puči (Cvjetković, 2010.).



Slika 4. Crna pjegavost rozgve vinove loze

Izvor: <http://www.forestryimages.org/browse/subthumb.cfm?sub=17827>

## 2.5. Žutica vinove loze

Bolesti vinove loze uzrokovane fitoplazmama zajedničkim imenom nazivaju se žutice vinove loze. U europskim vinogradima najčešće se susreću fitoplazme *Flavescence dorée* (zlatna žutica vinove loze ujedno je i najopasnija), *Bois noir*, te rijede *Aster yellows*, a sve su potvrđene i u Hrvatskoj. Simptomi i štete koje uzrokuju ove fitoplazme su vrlo slične pa vizualno ne možemo odrediti kojom fitoplazmom je oboljeli trs zaražen, već se treba provesti laboratorijsko ispitivanje.

Simptomi se na oboljelom trsu pojavljuju krajem lipnja. Uglavnom je zahvaćen cijeli trs, ali mogu biti zaraženi samo dijelovi lucnja ili reznika. Rubovi listova se počinju uvijati prema naličju tako da list poprima kopljast izgled. Takvi listovi su kruti te se uslijed stiskanja rukom drobe, dok se zdravi list gužva. Listovi kod bijelih sorata požute, dok kod crvenih sorata pocrvene, dijelovi lista nekrotiziraju i u jesen duže ostaju na trsu u odnosu na zdravi list. Na mladicama se uočavaju skraćeni internodiji, mladica ne odrvenjava te ostaje zelena i preko zime izmrzava. Cvatnja i oplodnja su poremećene, grozdovi se osipaju, smežuraju i suše. Ako i dozrije, grožđe je slabije kvalitete a urod je znatno manji.



**Slika 5.** Žutica vinove loze

Izvor: <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/427/zutice-vinove-loze/>

## 2.6. Sušica cvata i grozdića vinove loze

Bolest napada cvat i mlade grozdiće, zatim mladice, a osim toga, česta je na peteljki listova, dok se na plojci rijetko pojavljuje. Cvjetovi posmeđe i otpadaju, te na čokotu ostaje visiti samo suha peteljkovina. Kod djelomične zaraze cvata javljaju se smeđe do ljubičastosmeđe produljene pjege koje se često u sredini uzdužno raspuknu, a dio cvata iznad pjega se osuši. Na bobicama se bolest razvija odmah čim se formiraju. One pocrne i postanu tvrde. Kasnije se zaraza bobica ne javlja. Zaraza je utvrđena na velikom broju sorti vinove loze. Na mladicama se zaraza prepoznaje po smeđim do ljubičastosmeđim dugoljastim pjegama koje zahvate mladicu u dužini 1-10 cm, već prema jačini zaraze. Karakteristično je da se mladica u središtu pjege uzdužno raspukne. Ukoliko se rezidbom zaražena rozgva ne ukloni, izbija iz nje mladica koja se osuši, jer se gljiva iz rozgve proširi na bazi mladice koja na ovom mjestu posmeđi. Češća je zaraza cvata nego mladica, odnosno rozgve. Na plojki listova javljaju se male okrugle smeđe pjege, dok su simptomi na peteljki isti kao i na peteljkovini cvata. Kod zaraze peteljke lista, obično se osuši jedna polovina plojke.

Sušica cvata i grozdića vinove loze prvi puta detektirana je, kod nas, poslije 1949. godine, iako je sigurno postojala i ranije. U Hrvatskoj je raširena po cijeloj Istri, otoku Krku, Hrv. Zagorju, a u manjoj mjeri u Slavoniji i okolici Bjelovara. Nanosi velike štete jer uzrokuje sušenje cvata i mladih grozdića. Zabilježeni su slučajevi da uništi i do 80% cvata. Vlaga pogoduje zarazi, ali nanosi ozbiljne štete i u manje vlažnim godinama. Gljiva prezimi na zaraženim dijelovima loze u vidu piknida i micelija. Piknospore sa zaraženih dijelova inficiraju cvat i mladicu u proljeće. Micelij koji prezimi u zaraženoj rozgvi prelazi direktno u mladice. U toku vegetacije javljaju se također piknide sa sporama (i to u ovom slučaju tipa *Phoma*) na zaraženim dijelovima kojima se zaraza širi dalje.

Rezidbom treba ukloniti zaraženu rozgu, a u tijeku vegetacije treba ukloniti i sve zaražene dijelove tj. cvat, grozdiće i mladice; te ih spaliti. Potrebna su najmanje dva prskanja prije cvatnje i to bakrenim pripravcima. Prilikom prskanja treba poprskati cijeli čokot kao i sve zelene dijelove. Samo u slučaju jake zaraze na rozgvi, korisno je odmah, nakon kratkog reza, izvršiti tetiranje jednim od bakrenih pripravaka.

## 2.7. Crvena palež, crvenilo lišća (*Pseudopeziza tracheiphila*)

Krajem svibnja ili početkom lipnja na listovima se javljaju žućkaste uglate pjege koje kasnije kod bijelih sorti postaju žutosmeđe, a kod crnih sorti tamno-crvene, sa zelenim otokom u sredini. Tako napadnuti listovi suše, postaju smeđi i konačno otpadnu. Tijekom kolovoza ili rujna bolest se može ponovo pojaviti na svim listovima koji zbog toga prerano otpadnu. Crvena palež nije raširena bolest, ali može tamo gdje se javi; osobito na pojedinim sortama biti vrlo štetna, pošto se zaraženo lišće suši i ranije opada.

Gljiva prezimljuje u otpalom lišću. U proljeće uz nervaturu lista nastaju mnogobrojni apoteciji (plodišta) s askusima i askosporama koje nošene vjetrom vrše primarnu infekciju. Dozrijevanje apotecija je postupno i traje sve do kraja kolovoza. Na zaraženim listovima razvijaju se konidiofori s konidijama koje prošire zarazu. Spore na listu kliju i putem puči ili direktnim prodorom membrane zalaze u list. Gljiva zalazi u provodne elemente (žile) začepljujući ih, zbog čega dolazi do stvaranja pjega i sušenja.

Tijekom jesenskog ili proljetnog kopanja voditi računa, da se sve otpalo lišće duboko zakopa. Prvo prskanje bakrenim sredstvima provesti nešto ranije od prvog prskanja protiv peronosporne. Pošto se češće javlja na laganim tlima, gdje loza nema dovoljno vode, treba gnojdbom povećati sadržaj humusa a time i kapacitet tla za vodu. U vinogorjima u kojima se bolest pojavljuje treba provesti dva prskanja, i to u fazi tri lista i u fazi 5 do 7 listova, ako u tom razdoblju padaju kiše. Od fungicida za suzbijanje crvene paleži mogu se koristiti i oni registrirani za suzbijanje peronospore.



**Slika 6.** Crvena palež vinove loze

Izvor: <http://www.vinogradarstvo.hr/vinogradarstvo/bolesti-vinove-loze/118-crvena-palez-crvenilo-lisca-pseudopeziza-tracheiphila>

### 3. Alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija ili alkoholno vrenje biokemijski je proces transformacije monosaharida (glukoza, fruktoza) u alkohol i ugljični dioksid pod djelovanjem kvasaca i cijelog niza enzima. Kvasac je stvarni nosilac svih reakcija, koje predstavljaju manifestaciju njegovih životnih funkcija pod određenim aerobnim i anaerobnim uvjetima.

Najznačajniji kvasci za fermentaciju su kvasci iz grupe *Saccharomyces sensu stricto* (*S. cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. bayanus*, i *S. pastorianus*). Najzačajniji među njima svakako je *S. cerevisiae* koji se smatra glavnim „vinskim“ kvascem. Pod aerobnim uvjetima transformacija šećera ide do kraja, tj. stvara se ugljični dioksid i voda i oslobađa se velika količina energije. To je s energetskog gledišta vrlo ekonomičan proces jer malom pretvorbom šećera, kvasac osigurava veliku količinu energije za svoj razvoj.

Alkoholna fermentacija s druge strane predstavlja biokemijski proces razgradnje šećera u anaerobnim uvjetima tj. bez prisutstva kisika, koji se odigrava u živoj stanici kvasca. Krajnji produkti ovih reakcija su etanol i ugljični dioksid. Pod anaerobnim uvjetima transformacija šećera ne ide do kraja već samo do formiranja alkohola (etanola) a pri tome se oslobađa samo 56 kcal/mol. S energetskog stajališta taj proces nije tako ekonomičan, kao disanje, te ne daje dovoljno energije za razmnožavanje kvasaca. Zato da bi osigurao potrebnu energiju kvasac mora fermentirati veliku količinu šećera, što je od velikog praktičnog značaja.

Alkoholnoj fermentaciji podliježu monosaharidi s 6 atoma ugljika (glukoza, fruktoza, manoz). Većina kvasaca podjednako fermentira glukozu i fruktozu, dok manozu teže fermentiraju i to tek nakon prethodna dva šećera. Ovaj složeni biokemijski proces možemo podijeliti u dvije faze: prvo ide razgradnja glukoze do pirogroždane kiseline (piruvata) a taj skup reakcija nazivamo glikoliza, zatim sljedi alkoholna fermentacija.

### 3.1. Glikoliza

Glikoliza je skup reakcija koje kataliziraju mnogobrojni enzimi: važan korak je produkcija gliceraldehid 3-fosfata i to je endogeni proces, jer troši energiju u obliku 2 molekule ATP. Slijed reakcija nakon toga dovodi do produkcije prigroždane kiseline koji je egzogeni proces jer daje energiju u obliku 4 molekule ATP. Kad je završen proces stvaranja pirogroždane kiseline, tj. glikoliza, do tog je stupnja, anaerobna razgradnja šećera, jednaka aerobnoj razgradnji (disanju). U aerobnim uvjetima zatim dolazi do dekarboksilacije piruvata i stvaranja acetila koji se, vezan kemizmom A, dalje razgrađuje u ciklusu limunske kiseline (Krebs-ovim ciklusom) i oksidativnoj fosforilaciji. Konačni rezultat ovih oksidacijskih reakcija je stvaranje CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O i 38 ATP.

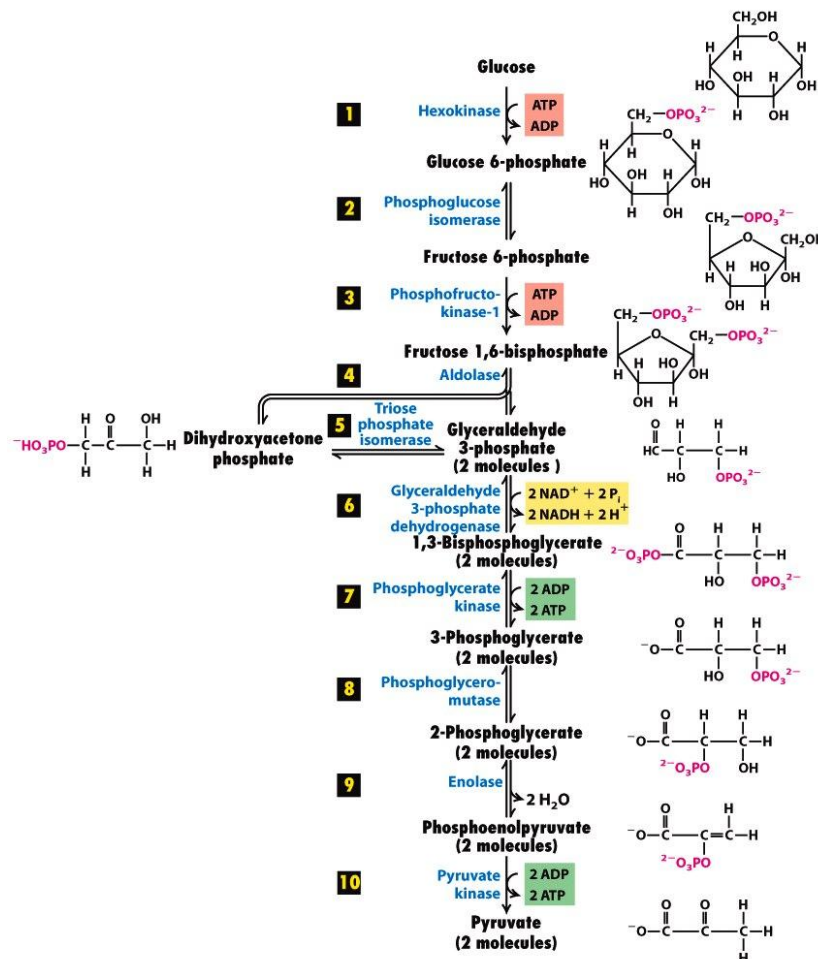


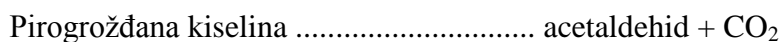
Figure 12-3  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company

Slika 7. Glikoliza

Izvor: <https://johncarlosbaez.wordpress.com/2016/01/08/glycolysis/>



Tek kad se glikolizom stvori veća količina pirogroždane kiseline započinje „prava“ alkoholna fermentacija. Ona dakle kreće od prigrložđane kiseline i to tako da najprije dođe do dekarboksilacije prigrložđane kiseline u acetaldehid, a zatim redukcijom stvorenog acetaldehida nastaje alkohol etanol, uz istovremenu oksidaciju  $\text{NADH}_2$  u  $\text{NAD}^+$  kao što je niže prikazano.



Reakcija alkoholnog vrenja, kvascu ustvari služi za oksidaciju  $\text{NADH}_2$  u  $\text{NAD}^+$ , tj. obnavljanje ovog posljednjeg sastojka, kako bi se nesmetano mogla odvijati glikoliza. Naime,  $\text{NAD}^+$  je akceptor vodika u transformaciji gliceraldehid 3-fosfata u 1,3 difosfoglicerat i daljnje reakcije glikolize ne teku ako se pojavi manjak ovog koenzima. Etanol predstavlja zapravo kranji nusproizvod vrenja i kao takav ne sudjeluje u daljnjem metabolizmu. Obnavljanje  $\text{NAD}^+$  moguće je i preko alternativnog puta, redukcijom dihidroksidaceton-fosfata i 1,3 difosfoglicerata.

Drugi oblik fermentacije se pojavljuje kad nema dovoljno na raspolaganju acetaldehida za obnavljanje  $\text{NAD}^+$ . To može biti posljedica endogenih i egzogenih faktora: npr.  $\text{SO}_2$  koji se veže dijelom acetaldehida i na taj način se reducira, odnosno sprječava daljnje reakcije acetaldehida. Ako se  $\text{SO}_2$  nalazi u velikoj količini, proizvodnja etanola je potpuno blokirana i proizvodi fermentacije su jedino glicerol, acetaldehid i  $\text{CO}_2$ .  $\text{SO}_2$  može biti također proizveden, u većoj ili manjoj količini ali s istim efektima, pomoću kvasaca redukcijom sulfata. Ovo su mehanizmi kojima se proizvodi acetaldehid (kao i glicerol) u vinu. Veća količina acetaldehida u vinu daje određenu notu oksidiranosti odnosno izvjetrenosti.

Treći oblik fermentacije predstavlja formiranje etanola, octene kiseline, glicerola i  $\text{CO}_2$ . Biološka interpretacija ovog procesa je objašnjena prisutstvom jedne dehidrogenaze koja skreće transformaciju acetaldehida od njegova normalnog puta u alkoholnoj fermentaciji, izazivajući stvaranje etanola i octene kiseline.

Četvrti oblik fermentacije (gliceropiruvatno vrenje) prikazuje produkciju glicerola i pirogroždane kiseline. Do ove forme alkoholne fermentacije dolazi kad u sredini nema dovoljno dušika (pomanjkanje dušika) ili kada se iz nekog razloga blokira pričuvena dekarboksilaza, koja katalizira predposljednju reakciju. Do ovog oblika alkoholne

fermentacije obično dolazi na početku fermentacije, kada još nema dovoljne količine pirogroždane kiseline. U tom slučaju pirogroždana kiselina predstavlja ishodišni materijal za formiranje sekundarnih sastojaka, alkoholne fermentacije.

Tiho vrenje je od velikog značaja za vino, jer se osim završetka fermentacije, odigravaju i drugi procesi veoma značajni za buduća svojstva vina. Smanjena aktivnost kvašćevih stanica rezultat je, prije svega, povećanog sadržaja alkohola i smanjenog sadržaja šećera. Pored smanjene aktivnosti, znatan broj kvašćevih stanica izumire (20 – 30 %), što ima za posljedicu opadanje intenziteta fermentacije. U početku, prvih dva do tri dana, proces alkoholne fermentacije karakterizira razmnožavanje kvasca, formiranje većih količina njegove biomase potrebne za transformaciju velikih količina šećera u moštu.

Kad se kvasac razmnoži u dovoljnoj mjeri, velike količine šećera razgrađuju se istovremeno, što se ispoljava u veoma intenzivnoj fermentaciji. Posljedice ovakvog stanja u moštu su nagli i veliki pad sadržaja šećera, porast temperature i jako pjenušanje uslijed oslobađanja velikih količina ugljičnog dioksida. To je period burne fermentacije i on traje različito vrijeme, obično tri do pet dana a nekada i više, ovisno o sadržaju šećera u moštu, temperaturi mošta, veličini sudova u kojima se obavlja fermentacija i dr. Za ovo vrijeme najveći dio šećera je fermentiran i ostaju još manje količine.

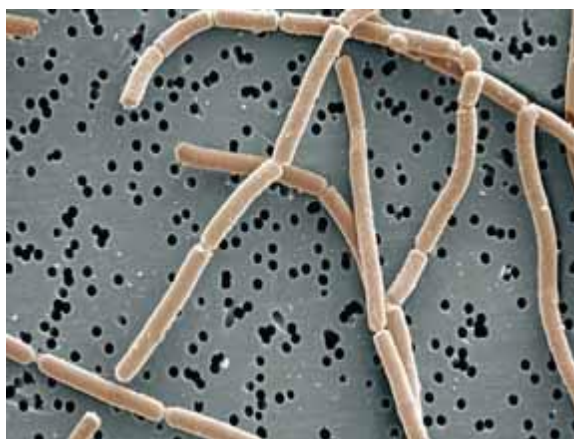
Poslije burne fermentacije nastupa period stišavanja ovog procesa, temperatura osjetno pada, a pjenušanje tekućine slabi jer se oslobađa manje ugljičnog dioksida. Ovo je period tihe fermentacije ili doviranja. Uslijed slabijeg inteziteta konvekcijskih kretanja veliki dio grubih čestica vina kao i izumrle kvašćeve stanice počinju sedimentirati, tako da se time zapažaju i prvi znaci spontanog bistrenja novog vina. Istovremeno sa ovim pojavama, uslijed pada temperature i oslobađanja ugljičnog dioksida smanjuje se i volumen tekućine, a samim tim se povećava otpražnjeni prostor iznad površine vina, što omogućava jače prodiranje zraka u otpražnjeni prostor iznad vina time se stvaraju uvjeti za njegovu aeraciju.

Da bismo proces tihog vrenja priveli kraju bez štetnih posljedica po vino, otpražnjeni prostor u sudovima treba svesti na što manju mjeru, što se može učiniti nadopunjavanjem sudova sa vinom iste kategorije i kakvoće ili pak kupažiranjem vina različite kakvoće u cilju stvaranja određenih tipova vina. Tiho vrenje je od velikog značaja za vino. U ovom periodu se, pored privođenja fermentacije kraju, odigravaju i drugi procesi veoma značajni za buduća svojstva vina.

Smanjena aktivnost kvašćevih stanica je prije svega rezultat povećanog sadržaja alkohola, a osim toga i smanjenog sadržaja šećera. Zbog smanjene aktivnosti i znatan broj kvašćevih stanica izumire, oko 20 – 30 %, što također ima za posljedicu opadanje inteziteta fermentacije. Poslije izumiranja uslijed autolize, iz kvašćevih stanica u vino prelaze dušični spojevi, među kojima su od naročitog značaja aminokiseline. I najzad, u ovome periodu se odigrava, a velikim dijelom i završava i proces mliječne fermentacije jabučne kiseline u vinu. (Vinarstvo II M. Zoričić, 2013.). Jabučno – mliječno (malolaktično) vrenje je spontani, a u novije doba sve više i dirigirani proces prelaska opore jabučne u manje kiseli i blagu mliječnu kiselinu. Ovo vrenje obavljaju bakterije pa se ono determinira još i kao biološka dezacidifikacija.

U sjevernim vinogorjima gdje je, zbog nezrelosti grožđa i karakterističnog sortimenta, sadržaj jabučne kiseline u moštu i vinu visok, ova tzv. druga fermentacija je vrlo bitna. Na tržištu se već nude komercijalni preparati bakterija koje obavljaju ovo vrenje (npr. *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus plantarum* i dr.). Sve ove pojave imaju velikog značaja za dalje procese stabilizacije i starenja vina. Dužina trajanja tihog vrenja je različita, ovisno o količini neprovrelog šećera, kao i o ostalim uvjetima za završetak fermentacije. Tako kod moštova bogatijih u sadržaju šećera (kada grožđe pređe u suharač – prezrelo grožđe sa smežuranim, prezrelim bobicama), tiho vrenje može trajati i više mjeseci.

Međutim kod većine moštova sa uobičajenim sadržajem šećera (oko 20 %) ovaj proces ne traje dugo i obično završava 10 – 30 dana nakon burne fermentacije. Mliječno vrenje provode: Homofermentativne bakterije čijim djelovanjem iz molekula šećera nastaju dvije molekule mliječne kiseline. Sadržaj mliječne kiseline od 70-90%. Heterofermentativne bakterije čijim djelovanjem iz šećera nastaju mliječna kiselina 50%, octena kiselina, CO<sub>2</sub>, etanol.



**Slika 8.** Bakterija koja sudjeluje u malolaktičnoj fermentaciji

Izvor: <http://oenococcusoeni.pbworks.com/w/page/5650663/Lactobacillus>

### **3.2. Sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije**

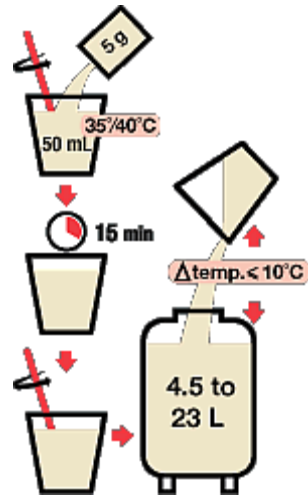
Tijekom trajanja fermentacije kvasac producira osim etanola i  $\text{CO}_2$ , (primarni proizvodi) u malim količinama i druge sastojke koje nazivamo sekundarni proizvodi. Fermentacijom 100g glukoze nastaje: etanol – 48,4 g,  $\text{CO}_2$  - 46,6 g, glicerol – 3,3 g, jantarna kiselina – 0,6 g, suhi kvasac – 1,2 g, octena kiselina, acetaldehid, piruvična kiselina, aceton, butandiol.

## 4. Rehidracija kvasca

Kod suhих vinskih kvasaca koji se koriste za pokretanje vrenja, prvi i najvažniji korak je rehidracija. Tijekom ove faze stanica kvasca upija vodu. Nepravilna rehidracija utječe disperziju stanica kvasca i može dovesti do gubitka staničnih sastojaka, što rezultira zastojem fermentacije. Količina vode koja se koristi treba biti oko 5-10 puta težine kvasca. Naprimjer 0,5 kg suhog kvasca može biti otopljena u 5 litara vode ( idealno 2,5 litre vode + 2,5 litre mošta).

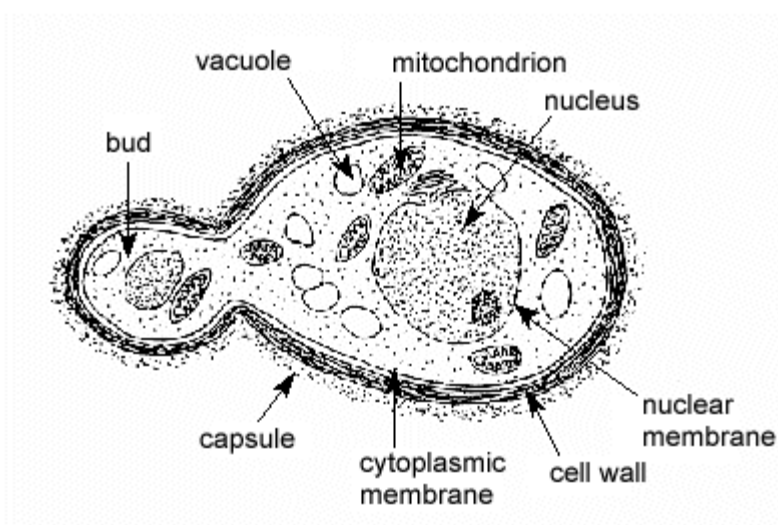
Taj je omjer najpovoljniji zato što kod rehidracije kvasca valja pratiti vrijeme rehidracije koje je najoptimalnije od 15-30 minuta. U ovako pripremljenoj otopini kvašćevim stanicama se ne može dogoditi pucanje te uništavanje istih. Koristiti toplu vodu. Poželjan raspon temperature vode 38 do 40 stupnjeva (niti prehladna, niti pretopla). Temperatura vode ispod 20°C može uzrokovati hladni šok i smanjiti održivost kvasaca. Kod temperature iznad 40° stupnjeva C dolazi do uništenja kvašćevih stanica. Polako dodati kvasac u vodu s manjom količinom mošta uz lagano miješanje. Temperatura mošta u koju se dodaje kvasac i temperatura pripremljenog kvasca ne smije biti u razlici većoj od 10 stupnjeva. Rehidrirati kvasac točno 30 minuta. Ne dopustiti da kvasac ostane duže od 30 minuta, jer će negativno utjecati na aktivnost kvasca. Ako niste sigurni jeste li pretjerali sa sumporenjem grožđa prije muljanja i runjanja i dobivanja mošta/masulja, koristite samo vodu za rehidraciju kvasca, budući da pretjerano sumporenje zaustavlja rad kvasaca.

Nakon rehidracije kvasca suzpenzija kvasca se dodaje u mošt. U ovoj fazi potrebno je osigurati kvascu idealne uvjete za razmnožavanje. Neki od važnih čimbenika koje treba uzeti u obzir su : temperatura fermentacije mošta treba biti od 25 - 30 stupnjeva. Kvasci roda *Bayanus* podnose više temperature i više koncentracije šećera, a daju izvrsne arome neovisno radi li se o bijelim, crnim ili rose vinima. Opskrba hranivima kao što su dostupnost šećera, dušika, fosfora, minerala u tragovima i vitamina. Ako nema dovoljno hranivih tvari (posebice prekomjernim gnojenjem vinograda u sušnim godinama), obavezno dodati kompleksnu 100% organsku hranu kvascu, koja sadrži posebne stanične stijenke kvasca. Osnovna hrana kvascu se koristi kao standard (DAP, vitamin B). Kisik je potreban kvascu tijekom razmnožavanja.



**Slika 9.** Rehidracija kvasca

Izvor: <http://www.brewerylane.com/wine/wine-yeast.html>



**Slika 10.** Stanica kvasca

Izvor: <http://danielseobiodiversity.blogspot.hr/?view=classic>

## 5. Selekcioniirani vinski kvasac

Selekcioniirani vinski kvasac, odabrani je kvasac s bobice (jagode) grozda, a u Zavodu za vinarstvo posebnim postupkom izoliran i dalje razmnožen u sterilnom moštu. Tako dobiveni kvasac ponovno se razmnožava u većoj količini mošta, a dobivena smjesa kvasca u obliku paste, suši se i zatim plasira na tržište. (SELEKCIJA = odabiranje, izbor, u ovom našem slučaju izabiremo najbolje kvasce namijenjene specifičnim uvjetima vrenja mošta ili isticanju sortnih svojstava budućeg vina). Kvasci alkoholnog vrenja dijele se na rodove, vrste i sojeve, a za vinarsku praksu najznačajnije su vrste iz roda *Sacchar-romyces*.

Kvasci se razmnožavaju pupanjem, a za tu aktivnost dobivaju energiju iz jednostavnih šećera koje sadržava mošt grožđa. Ostali uvjeti za rad kvasaca ovise o temperaturi, kisiku, ostalim hranjivim tvarima osim šećera, kao što su dušične tvari i vitamini, ali i o količini sumpornog dioksida dodanog moštu. Vinski kvasci razgrađuju veće čestice šećera i od njih proizvode alkohol, plin i toplinu. Alkohol osjetite kušajući, plin vidite na površini mošta ili u vrenjači, a toplinu osjetite opipom posude u podrumu.

Dakako, svaki od mikroorganizama za svoj rad zahtjeva određene uvjete. Može se birati, stvaranjem uvjeta u moštu, koji od mikroorganizama će raditi, a kojem će se onemogućiti djelovanje. Prednosti upotrebe selekcioniiranog vinskog kvasca su mošt, kojemu dodamo razmnoženu kulturu selekcioniiranog vinskog kvasca, provrije s plemenitim kvascem, čija su svojstva poznata (vrlo dobro provode vrenje mošta, a provrela vina su zdrava i bistra), a bez "divljih" kvasaca i bakterija. Važno je, da se iz lošeg, gnjilog grožđa može jakim sumporenjem i primjenom selekcioniiranog kvasca proizvesti zdravo vino. To navodimo zbog toga da se shvati da prirodni kvasci ne mogu efikasno djelovati u specifičnim slučajevima npr. visoke doze šećera, sumpora, truleži, alkohola i niske temperature.

U smjesi prirodnih kvasaca nalaze se i "divlji" kvasci, koji ne mogu preraditi veće količine šećera (mogu proizvesti najviše 4 – 5% alkohola), a rezultat toga može biti ostatak neprevrelog šećera, pa može doći do zavrelice (šećer prelazi u octeno-mliječno vrenje) pogotovo ako moštovi nisu dovoljno sumporeni i taloženi, a u kasnijoj fazi može doći do naknadnog vrenja (refermentacije).

Iz selekcije proizlazi da je ona višenamjenska, što znači da su jedni kvasci selekcionirani tako da vrenje provode u jače sumporenom moštu, pa ih nazivamo "sulfitni" (to su kvasci koji se dodaju moštu, koji je jače sumporen zbog veće količine bolesnog grožđa). Drugi provode vrenje kod nižih temperatura (krio kvasci), pa kvasci za proizvodnju pjenušca (to su kvasci koji podnose veće postotke alkohola). Osobito su zanimljivi oni koji pridonose jačem oslobađanju aromatskih tvari grožđa (mošta). Postoje i kvasci tzv. "visoke dovrelosti", a koriste se za vrenje masulja ili moštava s visokim postotkom šećera (ozmofilni kvasci), tu su još i kvasci za uklanjanje stagnacije vrenja, znači oni koje koristimo kad nam mošt prestane vreti zbog niskih temperatura u podrumu.

Tzv. plemeniti kvasci razlikuju se po svojim svojstvima kod njihove pripreme i kod pripreme vina i provođenja vrenja kada daju svoja obilježja. U posljednje je vrijeme nastala potreba da se upotrebljavaju kvasci za posebne potrebe i tehnološke programe provođenja vrenja i pripreme vina. Takvi kvasci prilagođeni su posebnim potrebama, tj. tehnologiji pripreme vina. Zbog toga su u upotrebi najčešće klonovi dviju vrsta kvasaca prilagođenih, svaki za sebe, posebnim potrebama tehnologije pripreme vina.

Izdvajaju se klonovi selekcije sljedećih kvasaca:

- *Saccharomyces uvarum* (kao *S. carlsbergensis*, *S. vallidus*, *S. logos*, *S. intermedius*)
- *Saccharomyces bayanus* (kao *S. oviformis*, *S. beticus*, *S. cheriensis*, *S. pasterianus*)

Svaki od njih ima svoje pozitivne i negativne učinke. Zbog toga ih treba poznavati.

Općenito su pozitivni učinci:

- sposobnost provrijavanja (visok sadržaj šećera, visok sadržaj alkohola);
- otpornost na niske temperature (krio kvasci);
- razvijena otpornost na prisutnost sumpornog dioksida ("sulfitni" kvasci);
- prilagodljivost na posebne primijenjene tehnologije, kao što je provedba vrenja uza zračenje mošta;
- brzo razmnažanje u moštu i brz početak vrenja.



Kao negativne učinke, mogli bismo nabrojiti:

- stvaranje relativno većih količina hlapljivih kiselina, ovisno o količini početnog šećera u moštu;
- pojedini kvasci mogu stvarati sumporastu kiselinu ( $H_2SO_3$ );
- pojedini kvasci mogu stvarati sumporovodik ( $H_2S$ ) pa su nakon vrenja potrebni; dodatni poslovi na mladom vinu
- pojedini kvasci, zahvaljujući svojoj klonskoj selekciji, stvaraju i veću količinu pjene.

U selekciji kvasaca izbjegavaju se njihova nepovoljna svojstva, pa tek takvi dolaze u promet, odnosno upotrebu. Vidljivo je da kod upotrebe kvasaca postoje određeni uvjeti koje moramo ispuniti, posebno je to izraženo kod upotrebe kvasaca prikladnih za posebne namjene u proizvodnji vina.

Moštu je prije dodavanja kvasca dobro dodati hranu za kvasce, osobito moštu proizvedenom od pljesnivoga, bolesnoga ili oštećenoga grožđa. Takav mošt je siromašan dušičnim hranjivima kao i vitaminima, posebno B1 (tiamin) kojega za svoj razvoj troši plijesan grozda ali ne ona plemenita, nego siva (*Botrytis cinerea*).

## 6. Enzimi

Enzimi su organski spojevi koji ubrzavaju razgradnju nekih drugih organskih spojeva. Kvasac u sebi stvara veliki broj različitih enzima (riječ enzim znači "u kvascu"). Enzimi kataliziraju (ubrzavaju) prelazak šećera u alkohol u tijeku alkoholnog vrenja. Kako se tu događa niz kemijskih promjena, u njima sudjeluje smjesa enzima. Tu smjesu zajedničkim imenom nazivamo zimaza (cimaza), a bjelančevinaste su građe.

Osim spomenutih enzima u kvascu, danas se u tehnologiji proizvodnje vina koriste visokokonzentrirani enzimatski proizvodi za maceraciju bijelog i crnog masulja. Djelovanjem tih enzima omekšavaju se stjenke bobice, što dovodi do povećane ekstrakcije antocijana, zatim tanina i mirisne komponente grožđa. Omogućuju bolje tiještenje (prešanje) masulja, pa se povećava i to količinski, masa soka (mošta), a i lakše je i brže bistenje. Neki od tih enzima smanjuju količinu polifenola, eliminiraju grube tanine, a drugi pak pridonose povećanju karaktera (tipičnosti) vina jer oslobađaju vezane terpenke spojeve. Terpeni su sastojci eteričnih ulja, svi su ugodna mirisa a pridonose mirisnoj komponenti vina.

## 7. Potpuno i djelomično "čisto" vrenje

Pod potpuno čistim vrenjem podrazumijevamo stavljanje čiste kulture kvasaca u svježe pasterizirani mošt, gdje su toplinski - pasterizacijom uništeni svi živi mikroorganizmi u moštu. Djelomično čisto vrenje mogli bismo nazvati ono kod kojeg smo istaložili sumpornim dioksidom ili filtracijom odvojili sve mikroorganizme iz mošta. Djelomičnim vrenjem možemo nazvati i naknadno izazivanje vrenja kod pjenušaca. Djelomično čisto vrenje može nastati i kad normalnim moštovima dodajemo čistu kulturu kvasaca u obilnom broju. Prema tome, mnoga vrenja uz dodavanja kvasaca koja smatramo čistim vrenjem za moderne potrebe, zapravo su relativno čista vrenja.

## 7.1. Uzroci zastoja fermentacije

Vrlo je važna čistoća i higijena podruma, adekvatna temperatura, te izvor hranjivih tvari (uravnotežen izvor DAP diamonij fosfata, aminokiseline, minerali i vitamini). Svi ti kriteriji moraju biti zadovoljeni. Kako izbjeći zastoj fermentacije: koristiti samo higijensku opremu – prljava ili nepravilno očišćena oprema povećava mogućnost negativnih mikrobioloških čimbenika poput divljih kvasaca i bakterija koje kvare vino. Treba izbjegavati ekstremne temperature fermentacije – previsoke ili preniske. Korištenje starog kvasaca – oslabljenog ili sa istekom roka. Korištenje neodgovarajućih kvasaca, jeftinih „aktivatora“ koji nemaju dovoljnu snagu u određenim uvjetima. Nepravilna rehidracija kvasca. Rehidracija kvasca na preniskoj ili previsokoj temperaturi. Temperaturni šok kod rehidriracije kvasca – pokušati ne dopustiti više od 10° C razlike između smjese pripremljenog kvasca i mošta u koji dodajete kvasac. Previsoka razina sumpora, kalijevogmetabisulfita. U početnoj fazi ne preporučuje se koristi više od 6 g/hl KPS (kalijevogmetabisulfita). Ostaci zaštitnih sredstava na vanjskoj površini od grožđa ili voća. Nedostatak hranjivih tvari, uključujući nedostatak dušika ili određenih aminokiselina. Kako je to jedan od najčešćih razloga zastoja fermentacije i pojave H<sub>2</sub>S u vinu (sumporovodik ili miris na „pokvarena jaja“).

Problem predstavljaju i moštovi s velikom koncentracijom šećera, jer teško započinju fermentaciju i teško je završavaju. No, danas na tržištu postoje i kvasci, koji mogu raditi i u otežanim uvjetima. Kisik je važan za razmnožavanje kvasaca, tako da, dok se kvasci dovoljno ne razmnože i ne započne alkoholna fermentacija, mošt treba biti u kontaktu sa zrakom, nakon toga postavlja se vreljnjača i fermentacija se nastavlja u anaerobnim uvjetima. Vrenjače sprečavaju hlapljenje alkohola i buketnih tvari, CO<sub>2</sub> izlazi, ali se ne vraća. Ako dođe do zastoja fermentacije, mošt treba ponovno prozračiti, da bi se potaknulo razmnožavanje kvasaca i po potrebi dodati još hrane za kvasce. Bjelančevine su hrana kvascima i utječu na njihov rad i razmnožavanje, kao i šećeri i mineralni sastojci. U mošt se često dodaju amonijev fosfat, amonijev sulfat, tiamin. Kiseline u moštu su bitne za pravilan tijek fermentacije, pH potreban za normalan rad kvasaca je 3 - 4. U moštu i vinu nalaze se organske kiseline, kao što su: vinska, jabučna, mliječna, jantarna, octena, ugljična i druge.

Kvasci su jako osjetljivi na octenu kiselinu. Na primjer, sadržaj octene kiseline oko 2 g/l otežava vrenje mošta, a na 4 - 5 g/l vrenje prestaje. To je naročito značajno prilikom pokretanja naknadnog vrenja, jer ako mošt odnosno vino sadrži više od 2 g/l octene kiseline veoma se teško može pokrenuti alkoholno vrenje. Različiti metali, podrijetlom iz grožđa (od tretiranja zaštitnim sredstvima) ili strojeva, kao što su bakar, željezo, cink, prilikom prerade mogu usporiti ili zaustaviti fermentaciju. Isto tako, botriticin - antibiotik, koji izlučuje gljiva *Botrytis cinerea*, a nalazi se u grožđu koje je zaraženo sivom plijesni, može usporiti vrenje. Uz navedene, postoji još puno čimbenika, koji utječu na fermentaciju, no najvažnije je svakodnevno pratiti tijek fermentacije, mjeriti temperaturu fermentacije i količinu šećera, kako bi se, ako dođe do problema, moglo na vrijeme reagirati.



**Slika 11.** Fermentacija vina

Izvor: <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/444/tehnologija-bijelih-vina/>

## 8. *Saccharomyces cerevisiae*

Jednostanični eukariot *S. cerevisiae* svrstan u carstvo gljiva, od davnina se koristi u pekarstvu i proizvodnji alkohola, a zbog svojih poželjnih karakteristika se često koristi i za istraživanje životnih procesa eukariotskih stanica. Idealan je modelni organizam za eksperimentalna istraživanja biokemijskih procesa eukariotskih stanica jer ga karakterizira jednostavan životni ciklus, kratko generacijsko vrijeme, jeftin te jednostavan uzgoj kao i laka genetička manipulacija.

### 8.1. Građa stanične stijenke

Stanice kvasca *S. cerevisiae* obavlja čvrsta ali ujedno i elastična struktura, stanična stijenka, koja ima vrlo važnu ulogu u stanici. Stanična stijenka kvasca ekstracelularna je struktura koja stanici pruža mehaničku čvrstoću, daje joj oblik, te osigurava osmotsku stabilnost (Smith i sur., 2000.) budući da predstavlja selektivnu barijeru kroz koju različite molekule ulaze i izlaze iz stanice (Klis, 1994. Cid i sur., 1995.).

Također ima ulogu i u komunikaciji stanice sa okolinom, a iako je čvrsta ujedno je i fleksibilna struktura što je veoma bitno za mnoge funkcije kao što su razmnožavanje, pupanje, transport i interakcija među stanicama. Stanična stijenka čini oko 20 % suhe tvari stanice, a u svom sastavu sadrži do 90 % ugljikohidrata i oko 10% proteina (Fleet, 1991. Ruiz-Herrera, 1992. Orlean, 1997.). Građu stanične stijenke čine polisaharidni polimeri: glukan, hitin i manoproteini. Elektronska mikografija pokazuje njenu dvoslojnu strukturu pri čemu se na unutrašnji sloj izgrađen od umreženih polisaharida nadograđuje zaštitni vanjski sloj od manoproteina. Unutrašnji sloj izgrađen od  $\beta$ -1,3-glukana (50% mase stijenke),  $\beta$ -1,6-glukana (5% mase stijenke) i hitina (1-2% mase stijenke), odgovoran je za mehaničku i osmotsku stabilnost (Teparić, 2005). Vanjski sloj sastavljen od manoproteina (35% mase stijenke) određuje površinska svojstva stijenke, a ujedno ima i protektivnu ulogu.

## 9. Polisaharidi stanične stjenke

Ugljikohidratni dio stanične stjenke (90%) čine tri polisaharidna polimera: glukan, hitin i manan.

### 9.1. Glukan

Sa udjelom većim od 50% mase stjenke, glukan je najzastupljeniji polisaharid stanične stjenke kvasca. Stanična stjenka sadrži dvije vrste glukana:  $\beta$ -1,6-glukan i  $\beta$ -1,3-glukan koji čini gotovo polovicu mase stanične stjenke. Glukan čini unutarnji sloj stanične stjenke, koji se također sastoji od dva dijela: vlaknastog unutarnjeg dijela i amorfnog vanjskog sloja. Unutarnji vlaknasti sloj izgrađuje  $\beta$ -1,3- glukan zajedno s hitinom i tako stjenki daje čvrstoću i oblik. Molekule  $\beta$ -1,3- glukana izgrađene su od oko 1500 glukoznih jedinica međusobno povezanih  $\beta$ -1,3-glikozidnom vezom, a samo 50-ak glukoznih ostataka je uključeno u grananje preko C6 atoma.  $\beta$ -1,3- glukan kovalentno je vezan na ostale stanične komponente tako da su njegovi ne reducirajući krajevi unakrsno vezani s reducirajućim krajevima hitinskih lanaca preko beta-1,4- glikozidne veze (Lesage i Bussey, 2006). Manje zastupljen glukan sa udjelom od samo 5% u stjenki, koji izgrađuje vanjski amorfnu sloj je vodotopljiviji razgranati polimer  $\beta$ -1,6-glukan. Sastavljen je od oko 140 glukoznih ostataka povezanih  $\beta$ -1,6-glikozidnom vezom. Kovalentno je vezan na  $\beta$ -1,3-glukan, hitin i manoproteine i time povezuje sve komponente stanične stjenke pa utječe na strukturu i stabilnost stanične stjenke (Lipke i Ovalie, 1998). Također može imati i ulogu akceptora za vezanje hitina posebice u za stanicu stresnim uvjetima.

### 9.2. Hitin

Hitin se u staničnoj stjenki pojavljuje u obliku linearnih lanaca N-acetilglukozamina povezanih  $\beta$ -1,4-glikozidnom vezom. Prevladava u ožiljcima koji zaostaju nakon pupanja stanice kvasca (Cabib i Duran, 2005.). Unatoč tome što hitin čini svega 1-2% suhe mase stanične stjenke, on ima važnu strukturnu ulogu u stjenki. Stoga u stanicama s oslabljenom stjenkom, kao spašavajući mehanizam se aktivira sinteza hitina čija razina ubočnim zidovima takvih stanica može biti i do 20% suhe mase stjenke (Garcia-

Rodriguez i sur., 2002.). Sinteza hitina u *S. cerevisiae* je strogo regulirana (Cabib i sur., 2001.) i uključuje tri hitin sintaze, a ugradnja hitina se u normalnim uvjetima odvija nakon citokineze. Procjenjuje se da je duljina hitinskih lanaca u ožiljcima pupova i staničnoj stjenci između 100 i 190 N-acetilglukozaminskih ostataka (Klis i sur., 2002.).

### 9.3. Manan

Manan je razgranati polisaharid sa udjelom u stjenci od 35%. Predstavlja ugljikohidratni dio molekula manoproteina koji su smješteni u vanjskom sloju stanične stijenke kvasca. Manoproteini su proteini na koje su kovalentno vezani ugljikohidratni lanci u procesu postsintetske glikozilacije. Ugljikohidratni dio ovih glikoziliranih proteina može činiti od 50-95% njihove molekulske mase. Međusobno se razlikuju po tipu glikozilacije: N-glikozilacija asparginskih ostataka ili O-glikozilacija serinskih ili treoninskih ostataka. Obje glikozilacije su neophodne za rast stanica kvasca te poremećaji u procesima glikozilacije imaju letalan učinak na stanicu.

### 9.4. Proteini stanične stijenke

Proteini čine 10% sadržaja stanične stijenke kvasaca, a nalaze se u obliku manoproteina kojih je dosad u stjenci identificirano više od 30. Funkcija većine proteina je još uvijek nepoznata, a za neke su istraživanja pokazala da njihovim uklanjanjem iz stanične stijenke nema značajnijih posljedica na oblik ili osmotsku stabilnost stanice. Iako točna fiziološka uloga velikog broja proteina stijenke nije poznata, smatra se da su proteini odgovorni za površinska svojstva stijenke kao što su hidrofobnost i električni naboj kao i za održavanje interakcija između stanica u procesima aglutinacije i flokulacije.

Analizom proteina ustanovljeno je kako se prema načinu vezanja mogu podijeliti u dvije skupine. Proteini vezani nekovalentno na  $\beta$ -1,3 gukan čine jednu skupinu. Ti proteini se mogu izolirati pomoću vrućeg SDS-a uz dodatak merkaptioetanolu. Drugu skupinu čine proteini koji zaostaju na staničnoj stjenci nakon izolacije nekovalentnih proteina, a na glukanski sloj su vezani kovalentno. Oni se mogu podijeliti u još dvije podskupine, na tzv.

GPI proteine te Pir-proteine, budući da se mogu izolirati na dva načina ovisno o vrsti vezanja na stijenku. GPI proteini vezani su preko glikozilfosfatidilinozitolnog ostatka (GPI sidra) na  $\beta$ -1,6-glukan, a iz stjenke se uglavnom ekstrahiraju tretmanom sa glukanazama.

Pir-proteini su za glukan vezani esterskom vezom između gama-karboksilne grupe specifičnog ostatka glutaminske kiseline proteina, koja se nalazi unutar ponavljajuće sekvence koja je specifična za ovaj tip proteina, te hidroksilne grupe glukoze iz  $\beta$ -1,3-glukana stjenke (Ecker i sr.,2006). Ovi proteini se ekstrahiraju pomoću NaOH (Mrša i Tanner, 1997.) jer je veza alkalno labilna.

## **10. *Brettanomyces spp.* kao uzročnik kvarenja vina**

Danas je već poznat velik broj mikroorganizama koji svojom prisutnošću u vinu utječu na organoleptička svojstva, kako u pozitivnom smislu tako i u negativnom. Od negativnih mikroorganizama osim bakterija i plijesni, zastupljene su i neke vrste kvasaca. Kvarenje se očituje u promjenama mirisa vina na plastiku, spaljeno, mokraću itd. Enolozi to nazivaju "brett" mirisom. Pojava ovog kvasca češće je zabilježena u crnim vinima. Najzastupljenija među kvascima je vrsta *Brettanomyces* ili *Dekkera*, kako nazivaju njegov oblik u sporama. Također, kao i ostale vrste kvasaca, nalazi se u sklopu mikroflore bobice grožđa. Ova vrsta kvasca ima značajnu ulogu u kvarenju vina, posebice u promjeni organoleptičkih svojstava vina. *Brettanomyces* kvasac prvi je put identificiran i izoliran 1904. godine u britanskoj pivarskoj industriji, odtud mu i potječe naziv.





**Slika 12.** *Brettanomyces bruxellensis*

Izvor: <http://brettanomycesproject.com/gallery/wln-media-agar/>

### 10.1. Otporan na sumpor

Do danas su prihvaćene dvije vrste, a to su *Brettanomyces (Dekkera) bruxellensis* i *Brettanomyces (Dekkera) anomalus*. U vinu se za sada smatra uzročnikom kvarenja jedino vrsta *Brettanomyces bruxellensis*. Jedna od karakteristika *Brettanomyces* je izrazita otpornost na uobičajene koncentracije sumpornog dioksida koji se upotrebljavaju u vinarstvu, te potreba za vrlo malim koncentracijama šećera koje koristi za svoj razvoj. Zbog toga je i njegova kontrola u podrumu otežana. Razvija se vrlo lagano u vinu i nema nikakvih vidljivih znakova da je vino kontaminirano dok ne dosegne kritičnu veličinu populacije koja onda uzrokuje negativne promjene u vinu. Hlapivi fenoli u višim koncentracijama uzrokuju promjene u mirisu vina, međutim, ukoliko dođe do sinteze nižih koncentracija hlapivih fenola, oni mogu pridonijeti i poboljšanju kvalitete vina. Neki francuski vinari smatraju da “brett“ miris daje kompleksnost crnim vinima. Podrijetlo kvasca *Brettanomyces* u vinu može biti iz vinograda ili iz podruma i podrumskog suđa, posebno drvenih bačava. U vinogradu ovaj kvasac dolazi u sklopu prirodne mikroflore bobice, no u većim populacijama se pojavljuje na grožđu zaraženom kiselom truleži. U pojedinim godinama tako zaraženim grožđem dolazi do veće kontaminacije podrumskih prostorija.

## 10.2. Izvor zaraze

Nekoć se smatralo da je glavni izvor zaraze neadekvatno održavana podrumaska oprema i da je glavni prijenosnik vinska mušica. Međutim, prema novoj literaturi, dužice drva su zahvaljujući svojoj hrapavoj strukturi i zaostalog šećera u njima najznačajniji izvor zaraze ovim opasnim kvascem. Pogotovo su podložna zarazi vina s ostatkom šećera, što bi značilo vina s problemima u fermentaciji. Utvrđeno je da neke vrste *Brettanomyces* kvasaca mogu koristiti i celobiozu, spoj koji nastaje paljenjem dužica bačvi. Zbog toga nove bačve predstavljaju bolje mjesto za njihov razvoj. S obzirom na već spomenutu sporu dinamiku razvoja u vinu i otpornost na uobičajene koncentracije SO<sub>2</sub>, kontrola kvasca *Brettanomyces* je otežana u podrumu. Kad se jednom “uvuče“ u podrum, vrlo ga se je teško riješiti. Međutim, postoji nekoliko načina kontrole zaraze. Ukoliko je kvasac *Brettanomyces* prisutan u vinu, potrebno je držati visoke razine slobodnog sumpornog dioksida.

## 10.3. Mjere uklanjanja

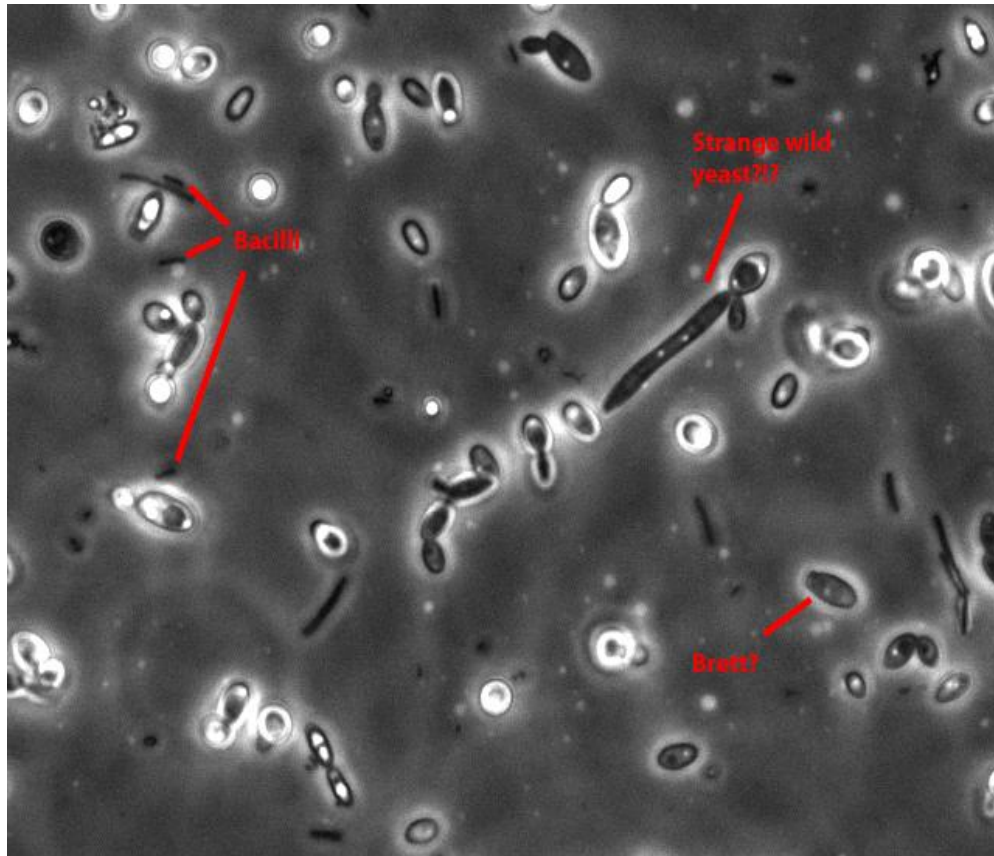
Ako se radi o drvenim bačvama, postoji mogućnost sterilizacije vrućom vodom >70°C, ali se to pokazalo kao kratkotrajno smanjenje populacije. Također i spuštanje temperature podruma ispod 12 °C ima utjecaj na smanjenje širenja populacije *Brettanomyces*. Jedna od najsigurnijih mjera je sterilna filtracija koja predstavlja uklanjanje mikroorganizama. Najčešće se provodi prije buteljiranja vina. Međutim, mnogi vinari se ne slažu s prednostima ove tehnologije jer smatraju da filtracija kroz pore od 0,45 μm negativno utječe na organoleptiku vina, posebice crnih. Postoji još jedan način sterilnog punjenja vina koji ne uključuje mehaničko odjeljivanje mikroorganizama vina, a to je tretiranje dimetildikarbonatom (DMDC). Na kraju treba spomenuti najnovije enološko sredstvo na tržištu koje se koristi za mikrobiološku stabilnost na bazi hitozana, polisaharida koji je derivat hitina izoliranog iz staničja gljiva. U prodaji dolazi u obliku bijelog praha. Sredstvo se koristi kao i bistrila. Ono je netopljivo i prije uporabe mora biti pomiješano s vinom ili vodom u dozi od 4 g/hL. Nakon toga treba provesti kružni pretok vina kako bi se sredstvo što ravnomjernije raspodijelilo. Nakon deset dana potrebno je pretočiti vino s nastalog taloga.

#### 10.4. Mikrooksigenacija vina

Proces mikrooksigenacije podrazumijeva dodatak malih, kontinuiranih i kontroliranih udjela kisika u vino, s ciljem poboljšanja njegove kakvoće. Kisik ima važnu ulogu u različitim fizikalno-kemijskim i mikrobiološkim procesima, koji se odvijaju tijekom fermentacije i starenja vina. Kisik je do određene mjere potreban vinu, da bi se ono ljepše razvijalo, a posebno kod crnih vina bitan je za bolje zaobljenje. Zbog toga se u proizvodnji i pazi da vina imaju kisika prema svojim potrebama. U proizvodnji crnih vina pokusi s mikrooksigenacijom mladih vina pokazali su kako pažljivo dozirana količina kisika u ranoj fazi života vina smanjuje osjetljivost na oksidaciju u kasnijem životnom razdoblju dozrijevanja.

Mikrooksigenacija se odvija spontano kroz drvo dužice bačve, ali to je i postupak u kojem se maleni sadržaj kisika ubrizgava u posudu u kojoj se nalazi mlado vino još na kvascima. To pomaže zaobljenju tanina i dozrijevanju vina na finom talogu od kvasaca, bez straha da se vinu dogode nepoželjne promjene reduktivne prirode. Mikrooksigenacija pokazuje osobito povoljan rezultat kod vina koja su bogata taninom. Ta je tehnika razvijena u Francuskoj (Madeiran) od Patricka Ducournaua i Michaela Moutouneta početkom devedesetih godina. Kod procesa mikrooksigenacije čisti kisik difuzno prelazi kroz keramičku membranu smještenu na dnu tanka od nehrđajućeg čelika. Dodatak kisika mora biti strogo kontroliran, jer višak kisika može dovesti do negativnih učinaka, kao što su oporost, neprirodni izgled, oksidacija fenola i negativno djelovanje mikroorganizama. Koncentracija dodanog kisika se izražava u mililitrima na litru vina mjesečno te ne može biti određena «a priori», jer je općenito neizravno vezana uz koncentraciju polifenola i degustaciju. U vinu, u kojem se provodi mikrooksigenacija, odnos antocijana i tanina trebao bi biti ekvivalentan. Ako vinu nedostaje boje, potrebno ga je kupažirati s nekim bojadiserom (npr. alicante bouchet 5-10 %). Vinu je potrebno neposredno poslije fermentacije osigurati određenu količinu elagitanina, uslijed čije oksidacije nastaje acetaldehid. Važno je da mutnoća vina bude ispod 100 NTU. Kod procesa mikrooksigenacije potrebno je kontrolirati kvasce roda *Brettanomyces*, koji u vinu stvaraju neugodne mirise, kao što su konjski znoj i mišja mokraćna (4-etil-fenol, 4-etil-gvajakol). Jednom tjedno potrebno je provoditi degustaciju vina tretiranog mikrooksigenacijom pri čemu je važno svaki put napuniti jednu butelju vina, koja će se kušati prilikom sljedeće

degustacije, paralelno s novim uzorkom, radi usporedbe. Prilikom kušanja vina prati se razvoj tanina tj. prijelaz «zelenih» tanina u «tvrde» tanine, koji kasnije tijekom daljnjeg dozrijevanja vina prelaze u «mekane» tanine dajući vinu potrebnu punoću.



**Slika 13.** *Brettanomyces bruxellensis*

Izvor: <https://sciencebrewer.com/2012/04/>

## 11. Bolesti vina

### 11.1. Sluzavost

Sluzavost je bolest mladih vina - najčešće se javlja nakon završenog procesa fermentacije ako vina nisu potpuno fermentirala i sadrže rezidualnog šećera. Sluzavost se može pojaviti i u kombinaciji s malo-laktičnom fermentacijom. Ovaj defekt je uzrokovan povećanim razmnažanjem bakterija koje proizvode sluzave niti kojima se međusobno povezuju i omataju. Pošto se sluz formira oko velikog broja stanica dolazi do naglog porasta viskoziteta vina. Kemijski sastav vina nije promijenjen zbog ovog defekta, jedino je došlo do pojave sluzi. Korekcija ovog defekta je vrlo jednostavna. Vino treba jako prozračiti - pretočiti uz dovoljan pristup zraka. Ako je potrebno sluz se razbija pretakanjem kroz ružicu ili snažnim udaranjem s čistom metlicom od sirka, tako da se u potpunosti razore sluzaste nakupine. Vino se potom filtrira i sumpori s 30 - 50 mg SO<sub>2</sub>/litri. Efektan način korekcije je jaka aeracija i fermentacija zaostalog šećera dodatkom zdravih kvasaca. Mjere prevencije su dobro rasluzivanje (taloženje) mošta, pravodobno uklanjanje mladog vina s taloga uz prisutnost O<sub>2</sub>.

### 11.2. Vinski cvijet

Film se stvara na površini vina, najčešće kod vina koja imaju nizak udio etilnog alkohola i koja su skladištena u nepotpuno napunjenim sudovima - bačvama (prisutan zrak). Kvarenje vina uzrokuju oksidativni kvasci *Candida vini*, *Hansenula anomala*, *Pichia membranaefaciens* a *Willia*, koji, u prisutnosti zraka, formiraju smeđe-bijeli-sivi film koji se sastoji od velikog broja stanica kvasaca. Film je u početku gladak ali vremenom odeblja i nabora se i počne taložiti na dno. Pri točenju takvog vina kožica – film se razbija na sitne komadiće koji podsjećaju na cvjetice rasute u čaši pa odatle i ime ovoj bolesti: vinski cvijet. Vino ispod filma je bistro, boja se najčešće ne mijenja, a u početku ni okus. Ako je kvarenje jače izraženo vino poprima neugodan miris i okus. Bolest je najčešće podcijenjena. Kod nekih specijalnih vina stvaranje filma i razvoj površinskih kvasaca se

stimulira. Pri uobičajenoj vinifikaciji ovo je vrlo ozbiljno kvarenje vina. kemijske promjene koje nastaju su:

- a) oksidacija etanola do  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$  uz istovremeno nastajanje acetaldehida i octene kiseline --> dakle dolazi do porasta hlapljivih kiselina;
- b) razgradnja kiselina, glicerola i drugih sastojaka ekstrakta.

Kod vina koje je obolilo smanjuje se njegova jakost jer se razrađuje etilni alkohol i ekstraktivne tvari, pa vino postaje vodenasto - prazno, poprima neugodan miris (uzrok su octena kiselina i etilacetat), vino se muti.

### **11.3. Octikavost ili ciknutost**

Octikavost vina uzrokuju bakterije *Acetobacter ascendes*, *Acetobacter mesoxidans*, *Acetobacter suboxidans* i druge. Octene bakterije prisutne su u vinu. One su tipični aerobni mikroorganizmi koji se razmnožavaju na površini vina. Iz tog razloga su vina u nepotpuno punim sudovima zbog prisutnosti zraka podložna octikavosti. Octene bakterije stvaraju tanki film na površini vina. Kod viših temperatura (optimalna temperatura za razvoj octenih bakterija je 30-35 °C) i dovoljne količine zraka octene bakterije prevode etilni alkohol u octenu kiselinu.

Acetaldehid je međuprodukt ove reakcije. Bakterije napadaju ostale sastojke vina: šećer, ukupne kiseline i dr. Vina s malo etilnog alkohola su osobito podložna octikavosti. Kvarenje vina rezultat je konverzije etanola i drugih komponenata u hlapljivu kiselinu (octenu). Vina imaju neugodan okus i nisu za piće. Proces se odvija brzo. Konverziju 1 g etanola u 1 litri vina u 1,3 g octene kiseline dovoljna je da vino postane neprihvatljivo za piće. Porast hlapljive kiseline ima vrlo neugodne posljedice po okus i aromu vina. Prema zakonskoj regulativi u promet se mogu stavljati bijela vina s max. 1,2 g/L hlapljivih kiselina (izraženo kao octena) i crna vina gornja granica je 1,6 g/L.

#### 11.4. Mliječno ili manitno vrenje

Mliječno vrenje javlja se u vinima s niskim sadržajem kiselina i tanina i neprovrelim (zaostalim) šećerom, a često je praćeno tzv. manitnim vrenjem. Uzrokuju ih bakterije iz roda *Lactobacillus*.

Mliječno vrenje provode:

- HOMOFERMENTATIVNE bakterije čijim djelovanjem iz molekula šećera nastaju dvije molekule mliječne kiseline i
- HETEROFERMENTATIVNE bakterije čijim djelovanjem iz šećera nastaju mliječna kiselina, octena kiselina, etanol i glicerol.

Vino poprima kiselkast okus, po kiselom zelju i kiselom mlijeku, a okus je peckav uslijed prisutnosti CO<sub>2</sub>. Ovakvi tipovi vrenja javljaju se često i u desertnim i likerskim vinima iako imaju visok udio etanola. Pogoduju mu visoke temperature pa se češće javljaju u vinima južnih (toplijih) krajeva. Ovom tipu vrenja pogoduje pH iznad 3,6.

MANITNO VRENJE - ovom tipu vrenja podliježe samo fruktoza.

FRUKTOZA + 2H ► C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> (manitol)

Kod prekinutog alkoholnog vrenja (na primjer zbog visoke temperature u fermentaciji) često dolazi do ovakvog tipa vrenja. Vino dobiva slatkast okus zbog manitola.

## 11.5. Zavrelica

Javlja se u vinima u proljeće kada se povisi vanjska temperatura. Bolest je češća u crnim vinima s manjim udjelom kiselina, tanina i pigmenta. U vinu se zbog nastajanja CO<sub>2</sub> čuje šum (znak prepoznavanja ove bolesti) i kod takvog vina u čaši se vide mjehurići. Vino ima oštar, peckav okus. Vina se zamute a u fazi kada je bolest vina uznapredovala na dnu suda stvara se talog s tvarima boje. Boja crnih vina se mijenja i poprima plavkastosmeđu boju, a bijela vina poprimaju tamno-žutu nijansu. Vino postaje prazno i neprihvatljivo za piće.

Ovu bolest uzrokuju bakterije iz roda *Lactobacillus* čijim djelovanjem u vinu dolazi do sljedećih promjena:

- degradacija vinske kiseline - nastaju octena kiselina i CO<sub>2</sub>;
- istovremeno dolazi do razgradnje glicerola pri čemu nastaje octena kiselina, mliječna ugljični dioksid i propionska kiselina.



## 12. Zaključak

Alkoholna fermentacija jedna je od osnovnih faza procesa proizvodnje vina i tijekom te faze se počinje stvarati vino. Proces se provodi u dvije faze, glikoliza i alkoholna fermentacija. Glikolizom se dobije pirogroždana kiselina koja ulazi u proces alkoholne fermentacije gdje se dalje djelovanjem enzima razlaže i dobijemo konačni osnovni produkt, alkohol i ugljični dioksid, kao i sekundarne produkte. Tiještenjem grožđa dobijemo mošt koji se sumpori, čisti zbog uklanjanja nečistoća koje bi smetale provođenju fermentacije, dodaju se selekcionirani vinski kvasci i hrana za kvasce kako bi fermentacija bila ujednačenija. Kod fermentacije važno je pratiti temperaturu mošta. Ukoliko je preniska, treba ju povisiti, ili ukoliko je previsoka pokušati je sniziti. Kada fermentacija započinje, stvaranje kvasca je na početku brže, temperatura poraste i dolazi do pjenjenja, a nakon nekoliko dana dolazi do postupnog smirivanja cijelog procesa i stvaranja karakteristika vina. Stvara se optimalna količina alkohola, ugljičnog dioksida i nastaju razni esteri, kiseline i drugi spojevi koji su odgovorni za aromu i kvalitetu vina. Kvaliteta vina ovisi o skladu svih sastojaka koji se nalaze u vinu. U današnje vrijeme alkoholna fermentacija je kontrolirani proces kako bi se dobila vina najboljih karakteristika, arome i svježine.

## 13. Popis literature

### Knjiga:

- [1] B. Cvjetković: Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze, Zrinski, Čakovec, 2010.
- [2] I. Ciglar: Integrirana zaštita voćnjaka i vinograda, Zrinski, Čakovec, 1998.
- [3] M. Maceljki, B. Cvjetković, Z. Ostojić: Štetočinke vinove loze, Zrinski, Čakovec, 2006.
- [4] Klis, F.,M., et al. (2006) Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 23,185-22
- [5] Klis, F.,M., et al. (2006) Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 23,185-22
- [6] Cabib,E., Duran, A. (2005) Synthase III-dependent chitin is bound to different acceptors depending on location on the cell wall of budding yeast. *J. Biol. Chem.* 280: 9170-9179
- [7] Fleet, G.H., (1991) Cell wall. U: *The Yeasts* (Rose, A.H., Harrison, J.S.), Academic Press, London, str. 199-277
- [8] Garcia-Rodriguez, L.J., Duran, A. And Roncero, C. (2000) Calcofluor antifungal action depends on chitin and a functional high-osmolarity glycerol response (HOG) pathway: evidence for a physiological role of the *Saccharomyces cerevisiae* HOG pathway under noninducing conditions. *J. Bacteriol.* 182, 2428-2437
- [9] Klis, F.M. et al.(2002) Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 23, 185-22
- [10] Mrša, V., Seidl, T., Gentzsch, M., Tanner, W. (1997) Specific labeling of cell wall proteins by biotinylation. Identification of four covalently linked O-mannosylated proteins of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 15,1145-1154.
- [11] Smith, A.E., Zhang, Z., Thomas, C.R., Moxham, K.E., Middelberg, A.P. (2000) The mechanical properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 97, 9871-9874.

- [12] Teparić, R. (2005) Proteini stanične stijenke kvasca *Saccharomyces cerevisiae*: mehanizam ugradnje u stijenku i moguće fiziološke funkcije. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.
- [13] Ruiz-Herrera, J. (1992) *Fungal Cell Wall: Structure, synthesis and assembly*. CRC Press, Boca Raton, USA.
- [14] Orlan, P. (1997) *The Molecular and Cellular Biology of the Yeast Saccharomyces cerevisiae* (Pringle, J.R., Broach, J.R., Jones, E.W.) Vol.3, Cold Spring Harbor, NY, 229
- [15] Lipke, P. N., Ovalie, R. (1998) Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *J. Bacteriol.* 180,3735-3740
- [16] Lesage, G., Bussey, H. (2006) Cell Wall Assembly in *Sacharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70, 318-322
- [17] Ecker, M., Deutzmann, R., Lehle, L., Mrša, V., Tanner, W. (2006) Pir proteins of *Saccharomyces cerevisiae* are attached to beta-1,3-glucan by a new protein-carbohydrate linkage. *J. Biol. Chem.* 281(17), 11523-11529.

### **Časopis:**

- [1] M. Zoričić: *Vinogradarsko vinarski priručnik*, Slobodna Dalmacija, 2013.

**Internet:**

- [1] <https://bib.irb.hr/prikazi-rad?&rad=401473>
- [2] <http://www.vinogradarstvo.hr/>
- [3] <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/492/bolesti-i-mane-vina/>
- [4] <http://www.totalwine.com/eng/guide-to-wine/fermentation.cfm>
- [5] <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/444/tehnologija-bijelih-vina/>
- [6] <http://www.gospodarski.hr/Publication/2011/6/kvasac-uzronik-kvarenja-vina/7453#.V9gs9BKzmoE>
- [7] [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_2/1a\\_fermentacije\\_stabilizacije.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_2/1a_fermentacije_stabilizacije.pdf)
- [8] <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/431/mikrooksigenacija-vina/>

## 14. Sažetak

U cilju sprječavanja kvarenja ili nastajanja mana vina vrlo je važna higijena tijekom čitavog procesa proizvodnje, naročito u malim podrumima, jer je najčešći uzrok bolesti i mana vina nekorektno tretiranje sudova i strojeva s kojima mošt i vino dolaze u kontakt. Octene i druge bakterije razmnožavaju se na nečistim površinama i mogu ući u vino. Podrum, sudovi i postrojenja u podrumu moraju biti savršeno čisti. Tijekom vinifikacije i starenja vina proizvodni proces se mora strogo kontrolirati, s vinom i moštom se mora pravilno postupati jer je lakše spriječiti bolest ili mane vina nego ih liječiti. Bolesti vina su promjene - kvarenje vina uzrokovano mikroorganizmima. Tijekom kvarenja dolazi do razgradnje pojedinih sastojaka vina (alkohola, glicerina, kiselina,...) i nastaju novi sastojci koji negativno utječu na kakvoću vina. Osim kemijskih promjena dolazi i do senzorskih promjena koje negativno utječu na kakvoću vina. Također, značajne mjere u kasnijem očuvanju vina ima tijekom i kvaliteta fermentacije. Naročito treba voditi računa da ne dođe do zastoja fermentacije jer se tada javljaju mikroorganizmi koji nepovoljno djeluju na tijek fermentacije, što najčešće rezultira bolešću vina. Bolesti grožđa imaju značajnu ulogu u kvaliteti budućeg vina. Ako je grožđe zaraženo sivom plijesni ili pepelnicom, tada možemo već na moštu vidjeti promjenu boje. Miris po plijesni također će kasnije imati veliki utjecaj na organoleptička svojstva budućeg vina. Takva vina podložna su kvarenju i nisu za dugo čuvanje.

Ključne riječi: vino, fermentacija, bolesti

## 15. Summary

In order to prevent deterioration of the formation of defects of wine is very important hygiene throughout the production process, especially in small basements, because the most common cause of disease and defect wine unfair treatment of vessels and equipment with which the must and wine come into contact. Acetic and other bacteria proliferate on unclean surfaces and can enter the wine. The area, courts and facilities in the basement must be perfectly clean. During the vinification and aging of wine production process must be strictly controlled, with wine and cider infection must be properly treated because it is easier to prevent disease or defect wine but is treated. Diseases wine changes - spoilage of wine caused by microorganisms. During the decay comes to degradation of certain components of wine (alcohol, glycerin, acid, ...) and there are new ingredients that have a negative impact on wine quality. In addition to chemical changes and comes to sensory changes that adversely affect the quality of wine. Also significant measures later in preserving wine has a flow and quality fermentation. In particular, care should be taken not to come to a halt fermentation because then occurring microorganisms that adversely affect the course of fermentation and the most common cause disease Wine. Diseases of grape play a significant role in the quality of the future wine. If the grapes are infected with gray mold or powdery mildew, then we must see more to change the color, the smell of mildew will also later those changes have a big impact on the organoleptic characteristics of the future wine. Such wines are subject to deterioration and not for long term storage.

Keywords: wine, fermentation, disease

## 16. Popis slika

Slika 1. Spore plamenjače na naličju lista vinove loze .....	3
Slika 2. Pepelnica na bobicama vinove loze .....	4
Slika 3. Siva plijesan na bobicama vinove loze .....	5
Slika 4. Crna pjegavost rozgve .....	6
Slika 5. Žutica vinove loze .....	7
Slika 6. Crvena palež vinove loze .....	9
Slika 7. Glikoliza .....	11
Slika 8. Bakterija koja sudjeluje u malolaktičnoj fermentaciji .....	15
Slika 9. Rehidracija kvasca .....	17
Slika 10. Stanica kvasca .....	17
Slika 11. Fermentacija vina .....	23
Slika 12. <i>Brettanomyces bruxellanis</i> .....	28
Slika 13. <i>Brettanomyces bruxellanis</i> prepoznavanje .....	31

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Diplomski rad

Sveučilišni diplomski studij, Vinogradarstvo i vinarstvo

### **Bolesti vinove loze i njihov utjecaj na fermentaciju i kvalitetu vina**

**Jasmina Mejaš**

#### **Sažetak**

U cilju sprječavanja kvarenja ili nastajanja mana vina vrlo je važna higijena tijekom čitavog procesa proizvodnje, naročito u malim podrumima, jer je najčešći uzrok bolesti i mana vina nekorektno tretiranje sudova i strojeva s kojima mošt i vino dolaze u kontakt. Octene i druge bakterije razmnožavaju se na nečistim površinama i mogu ući u vino. Podrum, sudovi i postrojenja u podrumu moraju biti savršeno čisti. Tijekom vinifikacije i starenja vina proizvodni proces se mora strogo kontrolirati, s vinom i mošt- om se mora pravilno postupati jer je lakše spriječiti bolest ili mane vina nego ih liječiti. Bolesti vina su promjene - kvarenje vina uzrokovano mikroorganizmima. Tijekom kvarenja dolazi do razgradnje pojedinih sastojaka vina (alkohola, glicerina, kiselina,...) i nastaju novi sastojci koji negativno utječu na kakvoću vina. Osim kemijskih promjena dolazi i do senzorskih promjena koje negativno utječu na kakvoću vina. Također, značajne mjere u kasnijem očuvanju vina ima tijekom i kvaliteta fermentacije. Naročito treba voditi računa da ne dođe do zastoja fermentacije jer se tada javljaju mikroorganizmi koji nepovoljno djeluju na tijek fermentacije, te najčešće rezultira bolešću vina. Bolesti grožđa imaju značajnu ulogu u kvaliteti budućeg vina. Ako je grožđe zaraženo sivom plijesni ili pepelnicom, tada možemo već na moštu vidjeti promjenu boje. Miris po plijesni također će kasnije imati veliki utjecaj na organoleptička svojstva budućeg vina. Takva vina podložna su kvarenju i nisu za dugo čuvanje.

**Rad je izrađen pri:** Poljoprivredni fakultet u Osijeku

**Mentor:** Prof.dr.sc. Suzana Kristek

**Broj stranica:** 44

**Broj slika:** 13

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** vino, fermentacija, bolesti

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo:**

1. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Aleksandar Stanisavljević, član

**Rad pohranjen u:** Knjižnica poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.



## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Agriculture

Graduate thesis

University Graduate Studies, Viticulture and Enology

### **Vine diseases and their impact on fermentation and quality of wine**

**Jasmina Mejaš**

#### **Abstract**

In order to prevent deterioration of the formation of defects of wine is very important hygiene throughout the production process, especially in small basements, because the most common cause of disease and defect wine unfair treatment of vessels and equipment with which the must and wine come into contact. Acetic and other bacteria proliferate on unclean surfaces and can enter the wine. The area, courts and facilities in the basement must be perfectly clean. During the vinification and aging of wine production process must be strictly controlled, with wine and cider infection must be properly treated because it is easier to prevent disease or defect wine but is treated. Diseases wine changes - spoilage of wine caused by microorganisms. During the decay comes to degradation of certain components of wine (alcohol, glycerin, acid, ...) and there are new ingredients that have a negative impact on wine quality. In addition to chemical changes and comes to sensory changes that adversely affect the quality of wine. Also significant measures later in preserving wine has a flow and quality fermentation. In particular, care should be taken not to come to a halt fermentation because then occurring microorganisms that adversely affect the course of fermentation and the most common cause disease Wine. Diseases of grape play a significant role in the quality of the future wine. If the grapes are infected with gray mold or powdery mildew, then we must see more to change the color, the smell of mildew will also later those changes have a big impact on the organoleptic characteristics of the future wine. Such wines are subject to deterioration and not for long term storage.

**Thesis preformed at:** Faculty of Agriculture in Osijek

**Mentor:** Prof.dr.sc. Suzana Kristek

**Number of pages:** 44

**Number of figures:** 13

**Original in:** Croatian

**Key words:** wine, fermentation, disease

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Aleksandar Stanisavljević, član

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.