

# Utjecaj folijarne primjene inaktivnih kvasaca na kemijski sastav grožđa sorte 'Babić crni'

---

Anić, Matej

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:011459>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**UTJECAJ FOLIJARNE PRIMJENE INAKTIVNIH KVASACA  
NA KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA SORTE 'BABIĆ CRNI'**

DIPLOMSKI RAD

Matej Anić

Zagreb, srpanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ FOLIJARNE PRIMJENE INAKTIVNIH KVASACA  
NA KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA SORTE 'BABIĆ CRNI'**

DIPLOMSKI RAD

Matej Anić

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Željko Andabaka

Zagreb, srpanj, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Matej Anić**, JMBAG 0178117686, rođen 31/01/2000. u Šibeniku, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

**UTJECAJ FOLIJARNE PRIMJENE INAKTIVNIH KVASACA NA KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA SORTE 'BABIĆ  
CRNI'**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta **Mateja Anića**, JMBAG 0178117686, naslova

**UTJECAJ FOLIJARNE PRIMJENE INAKTIVNIH KVASACA NA KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA SORTE 'BABIĆ  
CRNI'**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. izv.prof.dr.sc. Željko Andabaka mentor

\_\_\_\_\_

2. prof.dr.sc. Marko Karoglan član

\_\_\_\_\_

3. doc.dr.sc. Domagoj Stupić član

\_\_\_\_\_

## Zahvala

Veliko hvala mojim roditeljima Jozi i Marini te bratu Marku na velikoj podršci, strpljenju i vjeri u mene za vrijeme moga studiranja.

Posebnu hvalu predajem dragom Bogu na darovima koje mi je dao, ljubavi i miru koje mi je dao izravno, ali i preko moje zaručnice koja mi je također bila iznimna podrška i izvor radosti.

Veliko hvala mojemu mentoru, izv. prof. dr. sc. Željku Andabaki koji mi je omogućio rad na ovoj temi, uložio svoje vrijeme, trud, strpljenje i razumijevanje.

Također, zahvaljujem svim profesorima Agronomskog fakulteta u Zagrebu koji su se potrudili prenijeti mi znanje tijekom moga studiranja.

Iznimno zahvaljujem i svojim kolegama s diplomskog studija na prijateljstvu, suradnji, pomoći te zajedništvu tijekom studiranja.

# SADRŽAJ

<b>1. Uvod</b> .....	<b>1</b>
1.1. Cilj istraživanja.....	2
<b>2. Pregled literature</b> .....	<b>3</b>
2.1. Botanička pripadnost .....	3
2.2. Vinova loza u svijetu.....	3
2.3. Vinova loza u Republici Hrvatskoj .....	4
2.4. Klimatske promjene u svijetu .....	4
2.4.1. Utjecaj klimatskih promjena na vinovu lozu.....	5
2.5. Polifenoli.....	6
2.5.1. Polifenoli i vinova loza.....	6
2.6. Elicitori.....	7
2.6.1. Inaktivni kvasci u vinogradarstvu.....	7
<b>3. Materijali i metode</b> .....	<b>9</b>
3.1. Lokacija istraživanja.....	9
3.2. 'Babić crni' .....	10
3.3. Metoda aplikacije inaktivnih kvasaca.....	11
3.4. Metode analiza.....	13
<b>4. Rezultati i rasprava</b> .....	<b>16</b>
4.1. Masa grozdova .....	16
4.2. Osnovna kemijska analiza mošta .....	17
4.3. Analiza pojedinačnih organskih kiselina u moštu .....	18
4.4. Analiza sadržaja dušika u moštu .....	19
4.5. Analiza pojedinačnih polifenola iz kožica grožđa .....	20
<b>5. Zaključak</b> .....	<b>24</b>
<b>6. Popis literature</b> .....	<b>25</b>
Životopis.....	30

# Sažetak

Diplomskog rada studenta **Mateja Anića**, naslova

## **UTJECAJ FOLIJARNE PRIMJENE INAKTIVNIH KVASACA NA KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA SORTE 'BABIĆ CRNI'**

Vinova loza, iako nije jedna od najrasprostranjenijih voćnih vrsta, ima značajnu važnost za Republiku Hrvatsku. Hrvatska vina postaju sve prepoznatljivija u posljednje vrijeme, što ukazuje na potencijalnu buduću ekonomsku važnost vinogradarstva u Hrvatskoj. Posljednjih godina sve više se ističu problemi s fenolnom zrelošću grožđa, što se uglavnom pripisuje klimatskim promjenama. Polifenolni sastav grožđa od izuzetne je važnosti, prvenstveno zbog utjecaja određenih polifenola na senzorne karakteristike vina. U potrazi za održivim i ekološki prihvatljivim rješenjima, u posljednjih nekoliko godina pojavili su se proizvodi koji sadrže inaktivne suhe kvasce s elicitorskim učincima, što potiče stvaranje polifenola. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj inaktivnih kvasaca vrste *Saccharomyces cerevisiae* na polifenolni sastav grožđa hrvatske autohtone sorte vinove loze Babić. Istraživanje je provedeno na području uzgoja Jadrtovac – Donje polje a analize su provedene na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Istraživani parametri su: masa grozdova, sadržaj šećera, ukupna kiselost, pH vrijednost, koncentracija polifenola i organskih kiselina te sadržaj dušika u moštu. Istraživanje je pokazalo da tretman inaktivnim kvascima „LaVigne® AROMA“ može značajno utjecati na svojstva grožđa sorte 'Babić', što sugerira potencijal za poboljšanje kvalitete vina. U istraživanju su utvrđene značajne razlike kod tretiranih i kontrolnih uzoraka u masi grozdova, sadržaju dušika u moštu te sadržaju pojedinačnih polifenola u kožicama grožđa. U istraživanju nisu utvrđene značajne razlike u ukupnoj kiselosti, realnoj kiselosti, sadržaju organskih kiselina i sadržaju šećera u moštu.

**Ključne riječi:** vinova loza, polifenoli, Babić, inaktivni kvasci



## Summary

Of the master's thesis – student **Matej Anić**, entitled

### **THE IMPACT OF FOLIAR APPLICATION OF INACTIVE YEASTS ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF 'BABIĆ CRNI' GRAPE VARIETY**

Grapevine, although not one of the most widespread fruit species, holds significant importance for the Republic of Croatia. Croatian wines have become increasingly recognizable in recent times, indicating the potential future economic significance of viticulture in Croatia. In recent years, problems with phenolic ripeness of grapes have become more prominent, primarily attributed to climate change. The polyphenol composition of grapes is of exceptional importance, mainly due to the impact of certain polyphenols on the sensory characteristics of wine. In the search for sustainable and environmentally friendly solutions, products containing inactive dry yeasts with elicitor effects, which stimulate the formation of polyphenols, have emerged in recent years. The aim of this study was to examine the impact of inactive yeasts of the species *Saccharomyces cerevisiae* on the polyphenol composition of the indigenous Croatian grapevine variety 'Babić crni'. The research was conducted in the growing area of Jadrtovac – Donje polje, and the analyses were carried out at the Faculty of Agriculture in Zagreb. The investigated parameters included: cluster mass, sugar content, total acidity, pH value, concentration of polyphenols and organic acids, and nitrogen content in the must. The study showed that treatment with inactive yeasts "LaVigne® AROMA" can significantly affect the properties of the 'Babić crni' grape variety, suggesting potential for improving wine quality. Significant differences were found between treated and control samples in cluster mass, nitrogen content in the must, and the content of individual polyphenols in grape skins. The study did not find significant differences in total acidity, actual acidity, organic acid content, and sugar content in the must.

**Keywords:** grapevine, polyphenols, 'Babić crni', inactive yeasts

# 1. Uvod

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) jedna je od najstarijih biljnih kultura i prati čovječanstvo tisućama godina (Maletić i sur., 2008.). Iz Europe i zapadnog dijela Azije, odakle ova vrsta potječe, otkrivanjem i naseljavanjem novih dijelova svijeta (Amerike, Australije i Novog Zelanda), čovjek ju je prenio na sve druge kontinente osim Antarktike (Karoglan Kontić i sur., 2023.; Maletić i sur., 2008.). Vinova loza postaje jedna od najuzgajanijih vrsta u svijetu. Njeni se plodovi koriste najčešće za preradu u vino, a koriste se također za konzumaciju svježeg voća (većinom stolno grožđe), za sušenje i konzumaciju suhica te se koriste u farmaceutskoj industriji (Maletić i sur., 2015.). Iznimno dobra prilagodljivost na okolišne i klimatske uvjete omogućuje uzgoj širom svijeta, čemu posebice pogoduje vrlo velik broj sorti (oko 6000) čija biološka i gospodarska svojstva imaju velik raspon variranja pa je tako sortiment prilagođen području uzgoja ove vrste (Karoglan Kontić i sur., 2023.). Biljna vrsta vinove loze ima visoke zahtjeve za toplinom. Područja sa središnjom godišnjom temperaturom između 10 °C i 20 °C u pravilu su pogodna za njen uzgoj. Generalno uspijeva na području između 25° i 52° sjeverne geografske širine te 30° i 45° južne geografske širine (Maletić i sur., 2015.) iz čega možemo zaključiti da je vinova loza tipična vrsta umjerenog klimatskog pojasa. Sjevernije od sjeverne granice i južnije od južne uzgoj nije isplativ zbog preniskih prosječnih temperatura te zbog čestih pojava iznimno niskih temperatura koje mogu učiniti značajne štete. Vinova loza nije preporučena za uzgoj u arealu između preporučenih granica zbog previsokih temperatura i manjka hladnog zimskog razdoblja. Problem je taj što se fenofaze zbog navedenih razloga odvijaju nepravilno unutar godišnjeg biološkog ciklusa, što naposljetku rezultira neredovitim prinosima i neravnopravnom kakvoćom (Maletić i sur., 2008.). Poljoprivredna proizvodnja suočava se s različitim vrstama rizika, kako proizvodnim, tako i financijskim (Hardaker i sur., 2015.). Posebno je značajan utjecaj klimatskih promjena (rizik proizvodnje), od povećanja temperature zraka, smanjenja oborina, rasta razine mora do izloženosti vremenskim nepogodama poput suše, tuče, mraza i oluja. Čitava Europa je podložna klimatskim promjenama, s posebnim naglaskom na to da će jug Europe vjerojatno najviše osjetiti posljedice klimatskih promjena (Europska agencija za okoliš, 2021.). EEA (2019.) pokazuje da će u južnim dijelovima Europe, poput Mediterana uključujući Hrvatsku, doći do smanjenja poljoprivredne proizvodnje, dok će sjeverni dijelovi Europe postati pogodni za uzgoj usjeva koji se ranije nisu uzgajali na tim područjima. Možda više nego ikada u ljudskoj povijesti, naši poljoprivredni sustavi danas su izloženi riziku od brzih promjena klime koje utječu na prikladnost i održivost usjeva diljem svijeta. Utjecaj klime na agronomske djelatnosti najvidljiviji je u vinogradarstvu i proizvodnji vina, gdje je to vjerojatno najkritičniji aspekt u dozrijevanju voća do optimalnog stupnja kako bi se proizveo željeni stil vina (Jones i Webb, 2010.). Prethodno navedeni uski rasponi za optimalnu kvalitetu i proizvodnju stavljaju uzgoj vinove loze pod veći rizik od kratkoročnih varijacija klime i dugoročnih klimatskih promjena nego druge biljne kulture.

Fenoli su ključni spojevi prisutni u vinovoj lozi. Ova grupa spojeva obuhvaća skupinu molekula koje sadrže hidroksilnu skupinu (-OH) povezanu izravno s aromatskim ugljikovodikom (Bravo 1998.). Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti s ključnom fiziološkom i morfološkom ulogom u procesima rasta i reprodukcije biljaka, pružajući im zaštitu od patogena i predatora (Andabaka i sur., 2020.). Različite klimatske varijable poput temperature zraka, zračenja, oborina, relativne vlažnosti zraka, vjetra, nadmorske visine i topografskih karakteristika igraju ključnu ulogu u biosintezi polifenola u grožđu (Shah i sur., 2021.) pa samim time i klimatske promjene stvaraju brojne izazove u svijetu vina. Svojstva vina, poput trpkosti, gorčine i boje, značajno su oblikovana prisutnošću polifenola. Osim toga,

njihova antioksidativna aktivnost čini ih korisnima za ljudsko zdravlje (Milella i sur., 2012.). Od nedavno su se na tržištu pojavili održivi i ekološki prihvatljivi preparati s ekstraktima inaktivnih kvasaca koji se primjenjuju na grožđe u vinogradu u svrhu aktivacije obrambenih mehanizama biljaka što dovodi do stvaranja polifenola (Ferrari, 2010.).

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj inaktivnih kvasaca proizvođača „Lallemand“, naziva „LaVigne® AROMA“ na sastav grožđa i mošta s naglaskom na polifenolni sastav grožđa autohtone hrvatske sorte vinove loze zvane 'Babić crni'.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Botanička pripadnost

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.), je najraširenija i gospodarski najvažnija voćna višegodišnja kultura uzgajana na svakom kontinentu osim Antartike (Maletić i sur., 2008.). Botanički, vinova loza se klasificira unutar porodice lozica (*Vitaceae* Juss.), koja pripada redu Rhamnales u razredu dvosupnica (Magnoliatae, Dicotyledonae) te pododjeljku kritosjemenjača (Magnoliophytina, Angiospermae). Porodica Vitaceae obuhvaća 10 rodova, među kojima je rod *Vitis* najvažniji za vinogradarsku praksu i znanstvena istraživanja. Unutar roda *Vitis*, od oko 60 vrsta, većina ima svoju primjenu u oplemenjivanju, bilo za stvaranje podloga ili za razvoj sorti s otpornošću na razne biotske i abiotske stresove (Maletić i sur., 2008.).

### 2.2. Vinova loza u svijetu

Uzgoj u raznolikim klimatskim i okolišnim uvjetima dokaz je dobre prilagodljivosti vinove loze, čemu osobito doprinosi veliki broj sorti s velikim rasponom variranja bioloških i gospodarskih svojstava. Unatoč tome, kao i sva druga živa bića, vinova loza može preživjeti samo unutar određenih granica vrijednosti klimatskih elemenata (Karoglan Kontić i sur., 2023.). Vinovoj lozi klimatski odgovaraju područja umjerenoga toplinskog pojasa u kojima se pravilno izmjenjuju godišnja doba uz topla proljeća i ljeta te hladna i oborinama bogata razdoblja jeseni i zime (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Izvan ovih područja uzgoj vinove loze je neisplativ. Bliže polovima učestale su pozebe zbog niskih zimskih temperatura koje dovode do oštećenja pupova, ali i trajnih dijelova trsa, niskih suma temperatura u vegetaciji koje ne omogućavaju dobro dozrijevanje grožđa i pojave kasnih proljetnih te ranih jesenskih mrazova. Područja bliža ekvatoru neprikladna su za uzgoj vinove loze jer je zimi temperatura previsoka te se javlja problem izlaska pupova iz faze dubokog mirovanja što u proljeće rezultira nejednolikim kretanjem pupova (Karoglan Kontić i sur., 2023.). Najveće površine zasađene vinovom lozom u svijetu su zabilježene krajem sedamdesetih godina 20. stoljeća. „Međunarodna organizacija za lozu i vino (OIV – Organization international de la vigne et du vin) sa sjedištem u Parizu, koordinira istraživanja, zakonsku regulativu, zatim ostala pitanja značajna za vinogradarstvo i vinarstvo, a prikuplja i relevantne statističke podatke“ (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Prema podacima OIV-a (posljednji trenutno dostupni podaci su za 2022. godinu) vinovom lozom je zasađeno sveukupno 7.300.000 ha, što je za 0.4% manje nego u 2021. godini (OIV, 2023.). Površina pod vinovom lozom u svijetu odnosi se na ukupnu površinu posađenu za sve namjene (vino i sokovi, stolno grožđe i sušeno grožđe), uključujući mlade loze koje još nisu produktivne. Površina svjetskih vinograda čini se da se stabilizirala od 2017. godine. Međutim, trenutna stabilizacija skriva raznolike promjene u glavnim zemljama u kojima se uzgaja vinova loza (OIV, 2023.). Ukupna površina vinograda u Europskoj uniji (EU) uglavnom se stabilizirala u posljednjim godinama i iznosi 3.300.000 ha. Iz ovih podataka proizlazi da se u Europskoj Uniji nalazi 45.2% sveukupnih vinogradarskih površina. Španjolska ima zasađenih 955 tisuća hektara u 2022. godini, što predstavlja smanjenje od 0,8% u odnosu na 2021. S druge strane, Francuska je povećala površine (+0,8%) u usporedbi s 2021. i iznosi 812 tisuća hektara. Italija ima 718 tisuća hektara

pod vinovom lozom, stabiliziravši se nakon proširenja zabilježenog između 2016. i 2020. godine. Zemlje značajne proizvodnje kao što su Kina, Turska, Sjedinjene Američke Države, Argentina, Portugal i Južnoafrička Republika bilježe blagi pad zasađenih vinogradarskih površina. Moldavija bilježi značajan pad od 11.6% u 2022. godini u odnosu na 2021. godinu. Čile i Australija bilježe gotovo identične podatke u 2022. kao i u prethodnoj 2021. godini, dok Brazil bilježi blago povećanje površina od 0.8% (OIV, 2023.).

### **2.3. Vinova loza u Republici Hrvatskoj**

Vinogradarstvo, iako posjeduje izuzetne ekološke uvjete za uzgoj vinove loze i proizvodnju vina, čini relativno mali udio u poljoprivredno obradivom zemljištu mnogih dijelova Republike Hrvatske. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku Republike Hrvatske (2023.) koji se odnose na proizvodnju iz 2022. godine, obradivo zemljište čini značajan udio od 53,7%. Prema podacima DZS-a, u 2022. godini u Hrvatskoj je korišteno 1.447.919 ha poljoprivrednog zemljišta. Najzastupljenije su oranice i vrtovi te trajni travnjaci (Ministarstvo poljoprivrede, 2023.). Zapaženo je da prilično veliki postotak od 35,6% otpada na trajne travnjake, dok trajni nasadi (voćnjaci, maslinici i vinogradi) zauzimaju samo 5,6% poljoprivrednog zemljišta. Unutar ovog postotka, vinogradi čine samo 1,4% sveukupnog poljoprivrednog zemljišta, ukazujući na relativno nisku zastupljenost ove strateški važne grane poljoprivrede u ukupnom poljoprivrednom krajoliku. Geografski položaj zemlje, smješten između 42°25' i 46°30' sjeverne geografske širine, zajedno s umjerenom klimom, pruža povoljne uvjete za vinogradarstvo u većini njezinih regija, osim u područjima poput Like, Gorskog kotara i Banovine, kako su naglasili Fazinić i Fazinić (1997.). Ova ograničenja stvaraju specifične izazove, ali istovremeno naglašavaju važnost razvoja vinogradarstva kao ključne poljoprivredne grane, čime se iskorištavaju potencijali i stvara održivost ruralnih područja u Hrvatskoj. Prema istraživanju Milata (2005.), ova grana poljoprivrede ne samo da igra ključnu ulogu u gospodarskom smislu, već predstavlja i nužnost za opstanak lokalnih zajednica jer brojna manja mjesta u Republici Hrvatskoj opstaju zbog vinogradarske i vinarske djelatnosti. Prema dostupnim podacima autora navedenog istraživanja, vinova loza nekada je bila uzgajana na gotovo 200.000 hektara, što predstavlja značajnu površinu u usporedbi s današnjim vinogradima. Posljednje izvješće o stanju poljoprivrede iznosi tvrdnju: „*Pod vinogradima je u 2022. godini bilo 20.597 ha poljoprivrednog zemljišta. Proizvodnja grožđa u 2022. godini iznosila je 117.504 t uz prosječan prinos od 5,7 t/ha (Sjeverna Hrvatska 4,8 t/ha, Panonska Hrvatska 7 t/ha). Time je ostvarena proizvodnja grožđa bila za 1,1% viša u odnosu na 2021. godinu.*“ (Ministarstvo poljoprivrede, 2023.). Prema navedenom izvješću u 2022. je godini pod vinogradima bilo sveukupno 20.597 ha poljoprivrednog zemljišta, a proizvodnja grožđa je iznosila 117.504 t uz prosječan prinos od 5,7 t/ha.

### **2.4. Klimatske promjene u svijetu**

Klimatski podaci pokazuju jasno da u posljednjih nekoliko desetljeća, klimatske promjene imaju sve veći ekonomski i društveni utjecaj na globalnoj razini. Budući da solarna radijacija, oborine, temperatura zraka i tla te vlažnost predstavljaju čimbenike koji kontroliraju rast i reprodukciju biljaka, promjene u nekoliko od tih meteoroloških elemenata mogu dovesti do promjena u distribuciji vegetacije (Ollat i sur., 2017.). Smatra se da promjene klime predstavljaju ogromne izazove s kojima će

se čovječanstvo suočiti u nadolazećem vremenskom razdoblju, kako je opisano od Stručnog panela za klimatske promjene (Raza i sur., 2019.). Svaka moderna spoznaja o klimatskim promjenama naglašava da će se s kontinuiranim povećanjem emisija stakleničkih plinova nastaviti globalno zagrijavanje atmosfere. Ovo povećanje temperature povećava vjerojatnost ozbiljnih i nepovratnih posljedica, kako za ljudsku populaciju, tako i za ekosustave (Omazić i Telišman Prtenjak, 2023.). Učinak staklenika je prirodni proces koji ima značajnu ulogu u oblikovanju klime na Zemlji. Proizvodi relativno toplu i ugodnu okolinu blizu površine Zemlje gdje se ljudi i druge životne forme mogu razvijati i razmnožavati (Mahato, 2014.). Postoje tri načina na koja učinak staklenika može biti važan za poljoprivredu. Prvo, povećane koncentracije atmosferskog CO<sub>2</sub> mogu izravno utjecati na stopu rasta usjeva i korova. Drugo, promjene klime uzrokovane CO<sub>2</sub> mogu mijenjati razine temperature, oborina i sunčeve svjetlosti koje mogu utjecati na produktivnost biljaka i životinja. Na kraju, porast razine mora može dovesti do gubitka poljoprivrednog zemljišta putem poplava i povećanja saliniteta podzemnih voda u obalnim područjima (Mahato, 2014.). Prije Industrijske revolucije, unatrag otprilike 800.000 godina, koncentracija atmosferskog CO<sub>2</sub> kretala se između otprilike 200 – 300 dijelova po milijunu (ppm), dosežući najnižu vrijednost od 172 ppm prije sedam ledenih doba i vrhunac od 300 ppm prije tri međuledena doba (Lüthi i sur., 2008.). U veljači 2023. godine i dalje je rasla koncentracija CO<sub>2</sub> u atmosferi te iznosi 420.41 ppm (Kumar i Bhatia, 2023.). Gotovo 50% povećanje koncentracije CO<sub>2</sub> između 1813. godine (280 ppm) i 2023. godine (420.41 ppm) lako se pripisuje ljudskim emisijama, posebno sagorijevanju fosilnih goriva, uz manje, ali značajne doprinose promjeni korištenja zemljišta i proizvodnji cementa (Rubino i sur., 2013.).

#### **2.4.1. Utjecaj klimatskih promjena na vinovu lozu**

Vinova loza vrlo je osjetljiva na promjene klime što znači da bi klimatske promjene mogle prouzročiti ozbiljne posljedice i velike ekonomske štete u sektoru vinogradarstva i vinarstva (Ollat i sur., 2017.). Sve navedene posljedice imat će značajan utjecaj na vinogradarstvo, stoga je pravovremena i učinkovita prilagodba ključna kako bi se sačuvala tradicija i kvaliteta u ovom sektoru poljoprivrede i gospodarstva (Omazić i Telišman Prtenjak, 2023.). Jones i Webb (2010.) tvrde da je utjecaj klime na agrobiznis najuočljiviji u vinogradarstvu i vinarstvu, gdje je to najkritičniji aspekt u dozrijevanju grožđa do optimalnog stupnja kako bi se proizveo željeni stil vina. Meteorološki parametri poput temperature, solarne radijacije, oborina i intergodišnje sezonske varijabilnosti dovode do sezonskih promjena u produktivnosti vinove loze (Fraga i sur., 2019.). Ekstremni vremenski događaji poput tuča, obilnih kiša i kasnih mrazova prepoznati su kao faktori koji imaju štetan utjecaj na produktivnost i kvalitetu vinove loze (Mosedale i sur., 2015.). Klimatski faktori igraju ključnu ulogu u odabiru odgovarajućih sorti grožđa za proizvodnju visokokvalitetnih vina. Klima je ograničavajući faktor koji određuje fenologiju, vegetativni rast, fiziološki razvoj, proizvodnju plodova i, stoga, kvalitetu grožđa i vina (Van Leeuwen i sur., 2004.; Keller i sur., 2010.). Ekstremni toplinski stres tijekom perioda sazrijevanja naglo usporava metabolizam vinove loze. To može rezultirati povećanim razinama šećera i smanjenom kiselosti, što potencijalno povećava rizik od kvarenja vina (De Orduna, 2015.), što dovodi do smanjenja proizvodnje i kvalitete. Očekuje se da će klimatski ekstremi nepovoljno utjecati na karakteristike kvalitete bobica, uključujući polifenole, u različitim sortama grožđa. Na primjer, razine polifenola, posebice antocijana, imaju tendenciju smanjenja pri višim temperaturama, dok se razine flavonola povećavaju s intenzivnijim izlaganjem sunčevom zračenju (Shah i sur., 2021.). Nadalje, ekstremne vrućine i stres uzrokovan nedostatkom vode pod takvim klimatskim uvjetima mogu ugroziti konačne prinose i produktivnost (Fraga i sur., 2018.). Zbog sve većeg broja izuzetno toplih godina,

predviđanja budućih klimatskih scenarija ukazuju na to da će se područja pogodna za uzgoj vinove loze pomicati prema sjevernim područjima, dok južne regije postaju previše vruće i stoga više neće biti pogodne za uzgoj određenih sorti (Lazoglou i sur., 2018.).

## 2.5. Polifenoli

Metaboliti predstavljaju proizvode i međuprodukte metabolizma unutar stanice. U stanici obavljaju raznolike funkcije, uključujući signalizaciju, strukturalnu podršku, stimulaciju i inhibiciju enzima, djelovanje kao gorivo, posjeduju vlastitu katalitičku aktivnost, te su ključni za obranu i interakcije s drugim organizmima. Biljke proizvode raznovrsne organske tvari, pri čemu većina tih tvari ne sudjeluje izravno u rastu i razvoju biljke. Ove tvari poznate su kao sekundarni ili specijalizirani metaboliti (Tiwari i Rana, 2015.). Polifenoli, zajedno s fenolnim kiselinama, predstavljaju veliku skupinu sekundarnih biljnih metabolita koji se mogu klasificirati temeljem njihove strukture. Struktura polifenola je kompleksna, te se fenoli mogu podijeliti u različite skupine i podskupine. Klasifikacija se provodi na temelju broja prisutnih fenolnih prstena, kao i na temelju strukturnih elemenata koji povezuju ove prstene međusobno (Tomaz 2016.). Polifenoli se općenito definiraju kao spojevi koji sadrže više aromatskih prstena, svaki s jednim ili više hidroksilnih skupina. Fenoli predstavljaju klasu spojeva koji sadrže aromatski prsten, bez obzira na broj hidroksilnih skupina povezanih s njim (Quideau i sur., 2011.). Ovi spojevi obično se nalaze u vakuolama stanica epiderme. Njihova sinteza događa se iz aminokiseline fenilalanina (Karalić 2014.). Polifenoli se dijele u dvije osnovne grupe, a to su flavonoidi i neflavonoidi (fenolne kiseline) (En-Qin i sur., 2010.). Predstavnici glavnih skupina polifenola u grožđu obuhvaćaju flavanoide i stilbene. Flavonoidi, među kojima su antocijani, flavonoli i flavan-3-oli, čine najznačajniju grupu polifenola (Lorrain i sur., 2013.). Fenolne kiseline dijele se prema strukturi na hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline (Garrido i Borges, 2013.). Stilbeni, koji djeluju kao fitoaleksini u vinovoj lozi, postaju sve zanimljiviji zbog svojeg pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje (Flamini i sur., 2013.). Antocijani se nalaze u kožici grožđa kao slobodni i acilirani derivati 3-O-glikozida. Imaju ključnu ulogu u određivanju boje bobica grožđa (Guidoni i Hunter, 2012.).

### 2.5.1. Polifenoli i vinova loza

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti i značajni organski spojevi prisutni u grožđu, moštu i vinu. Njihova važnost u grožđu uglavnom proizlazi iz utjecaja na kvalitetu vina, budući da imaju ključnu ulogu u oblikovanju boje, okusa, astringencije, gorčine te potencijala starenja vina (Andabaka i sur., 2022.). Grožđe i lišće predstavljaju obilan izvor polifenola, pri čemu se u plodu grožđa mogu pronaći u koži, pulpi i sjemenkama. Svaki od tih dijelova bobice grožđa ima različite količine i sastav polifenola. Koža grožđa obično sadrži tanine i pigmente, pulpa je bogata sokom, ali ne sadrži pigmente, dok sjemenke često sadrže tanine (Flamini i sur. 2013.). Polifenoli štite list od štetnog UV zračenja te utječu na regulaciju biljnih hormona, posebno auksina. U listovima vinove loze smješteni su u epikutikularnom vosku i epidermi. Njihov sastav i sadržaj u listovima može biti indikator prilagodbe biljke na razinu i intenzitet UV zračenja tijekom pojedinih fenofaza razvoja (Peer i sur., 2007., Rozema i sur., 1997.) Sastav i količina polifenola u grožđu podložni su brojnim faktorima, a među njima se ističe sortiment (genotip) kao jedan od ključnih čimbenika. Ostali faktori uključuju uvjete okoline u kojoj vinova loza raste,

posebice izloženost svjetlosti, temperatura i dostupnost vode. Dodatno, različite agrotehničke i ampelotehničke prakse, poput navodnjavanja, gnojidbe, kontroliranja prinosa i defolijacije, mogu imati značajan utjecaj na sadržaj polifenola u grožđu (Downey i sur., 2006.).

## 2.6. Elicitori

Biljke su izložene raznim prijetnjama poput napada patogena (gljivice, virusi, kukci, nematode) i teških fizičkih uvjeta (suša, slanost, temperatura, izloženost UV zračenju) (Thakur i sur., 2019.). Biljke imaju receptore i senzore za prepoznavanje prijetnje, elicitore ili signalne molekule, koji aktiviraju obrambeni mehanizam za stabilizaciju protiv tih stresova (Thakur i sur., 2019.). Ovaj obrambeni mehanizam uključuje nakupljanje sekundarnih metabolita. U vinovoj lozi, sekundarni metaboliti proizvode se i nakupljaju u grožđu (Coombe i McCarthy, 2000.) i uključuju: hlapljive spojeve, flavonoide, glikozide, tanine i arome (Thakur i sur., 2019.). Biljni sekundarni metaboliti djeluju kao obrambene tvari (Ramakrishna i Ravishankar, 2011.) i bitni su za zaštitu biljaka od insekata, štetočina, biljoždera, fitopatogena i prilagodbe biljaka okolišu (Thakur i sur., 2019.), iako nemaju značajnu ulogu u očuvanju vitalnih životnih procesa biljaka. Elicitor se definira kao tvar koja potiče ili povećava biosintezu određenih spojeva kako bi se biljke prilagodile stresnim uvjetima kada se primjenjuju u malim količinama na živi sustav. Klasificiraju se kao biotički i abiotički, ovisno o njihovom podrijetlu i molekularnoj strukturi (Radman i sur., 2003.). Kao abiotički (kemijski) elicitori, koriste se različite tvari i pripravci s ciljem povećavanja sadržaja polifenola (Martinez-Perez i sur., 2023.). Biotički elicitori su biološkog porijekla kao npr. plijesni, bakterije, virusi, kvasci, ali i komponente stanične stijenke biljaka te fitokemikalije koje se otpuštaju na mjestu napada biljke patogenima i biljojedima (Zhao i sur., 2005.). Među biološkim elicitorima, ekstrakti kvasca sadrže nekoliko spojeva (kao okidači različitih načina obrambene reakcije biljaka) (Ferrari, 2010.) koji mogu djelovati kao elicitori (Giacosa i sur., 2019.). Stanične stijenke kvasca sastoje se od manoproteina,  $\beta$ -1,3- i  $\beta$ -1,6-glukana te hitina, dok plazmatska membrana kvasca sadrži lipide, sterole i proteine (Portu i sur., 2016.).

### 2.6.1. Inaktivni kvasci u vinogradarstvu

Proizvodi inaktivnih suhih kvasaca derivati su kvasaca proizvedenih iz vrste *Saccharomyces cerevisiae*, koji su prethodno tretirani kako bi se inhibirala njihova fermentacijska aktivnost. Obično se ovi proizvodi dobivaju uzgojem kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* u sredstvu bogatom šećerom, nakon čega se kvasci autoliziraju i suše kako bi se dobili finalni proizvodi (u obliku praha) (Pozo-Bayón i sur., 2009.). Oni mogu sadržavati inaktivne kvasce, autolizate kvasaca, ekstrakte kvasaca, ljuske ili stijenke kvasaca (Pozo-Bayón i sur., 2009.). Među biološkim elicitorima, ekstrakti kvasaca sadrže nekoliko spojeva (Ferrari, 2010.) koji mogu djelovati kao elicitori (Giacosa i sur., 2019.) jer mijenjaju polifenolni sadržaj tretiranih bobica putem interakcije između loze i patogena, budući da su kvasci prepoznati kao patogeni i aktiviraju mehanizme obrane biljke (Santamaría i sur., 2011.), poboljšavajući sekundarni metabolizam dozrijevajućeg voća (Zhao i sur., 2005.). Stanične stijenke kvasca sastoje se od manoproteina,  $\beta$ -1,3-glukana,  $\beta$ -1,6-glukana te hitina, dok plazmatska membrana kvasca sadrži lipide, sterole i proteine (Portu i sur., 2016.). U potrazi za održivim i ekološki prihvatljivim preparatima, istražuju se ekstrakti inaktiviranih kvasaca u tretmanu vinove loze kako bi se potaknuli obrambeni



mehanizmi biljaka, uključujući aktivaciju sekundarnih biosintetskih putova, poput onoga koji dovodi do stvaranja polifenola (Ferrari, 2010.). Koriste se kako bi poboljšali i očuvali aromatični sastav vina te razvili potrebna svojstva osjeta u ustima (Šuklje i sur., 2016.). U toplim klimatskim uvjetima, optimalna razina šećera često se postiže prije postizanja ostalih ključnih čimbenika poput fenolne zrelosti. To znači da se često odabire datum berbe prije svega radi potencijalnog sadržaja alkohola, a ne zbog drugih parametara kvalitete grožđa (Hannah i sur., 2013.).

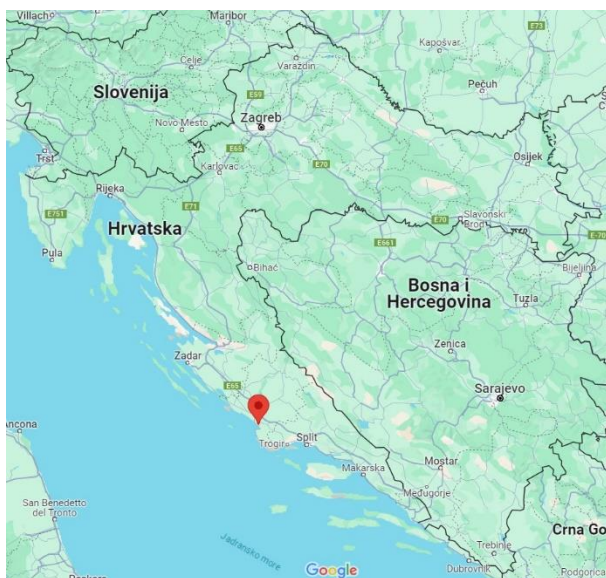
Iako su široko priznati u sektoru vinogradarstva i enologije, nedostaje istraživanja koja detaljno analiziraju elicitorski učinak primjene enoloških kvasaca na vinovoj lozi pod stvarnim uvjetima. Istraživanje koje su proveli Šuklje i sur. (2016), ukazuje na potencijalnu korist od primjene inaktivnih suhih kvasaca na sorti Sauvignon Blanc u vinogradima Južne Afrike. Ova primjena pokazuje povećanu proizvodnju hlapljivih spojeva u vinima i/ili poboljšano očuvanje njihove aromatske kompleksnosti. Slično tome, Portu i sur. (2016.) su izvijestili o povećanju sadržaja antocijana u grožđu i posljedično vinima sorte Tempranillo u Španjolskoj nakon folijarnog tretmana enološkim kvascima. Ovi nalazi podržani su i istraživanjem Villangóa i sur. (2015.), gdje su folijarni tretmani kvascem na sorti Syrah u Mađarskoj poboljšali proces sazrijevanja grožđa u toplijoj i hladnijoj berbi, rezultirajući većom akumulacijom antocijana u tretiranom grožđu i time stvarajući uravnoteženija, ukusnija i kompleksnija vina.

Gabler i sur. (2003.) su dokazali da utjecaj primjene inaktivnih kvasaca na mehaničke osobitosti kože bobica može biti od velike važnosti u smislu povećanja otpornosti grožđa na gljivične bolesti i fizičke ozljede.

## 3. Materijali i metode

### 3.1. Lokacija istraživanja

Nasad vinove loze na kojem je uzgojeno grožđe korišteno u ovom istraživanju nalazi se na području uzgoja Jadrtovac - Donje Polje. Smješten je u vinogradarskoj regiji Dalmacija, a podregija u kojoj se nalazi je Sjeverna Dalmacija (Ministarstvo Poljoprivrede, 2022). Dio podregije na kojem je smješten Jadrtovac - Donje Polje je vinogorje Šibenik. Površina koju obuhvaća ovaj teritorij iznosi trenutno više od 310 ha, a radi se na širenju vinograda. Na ovom području trenutno se nalazi više od 1.2 milijuna trsova vinove loze. Ovo poljoprivredno zemljište je u zakupu na 50 godina. Zakupnici su: „EGO VINA d.o.o.“, „Vinarija Testament“ i „VinoLine d.o.o. – Plenković“. Ovo istraživanje provedeno je na jednom od dijelova vinograda koji pripada društvu s ograničenom odgovornošću za proizvodnju i trgovinu „EGO VINA d.o.o.“. Na tom vinogradu uzgajane su autohtone hrvatske sorte: 'Crljenak kaštelanski', 'Babić crni' i 'Pošip'. Ovo istraživanje provedeno je na sorti 'Babić crni'. Teren ovoga vinograda jugoistočno je eksponiran, pad terena je umjeren.



Slika 1. Jadrtovac na karti Hrvatske prikazan crvenom oznakom  
(Izvor: Google karte – 18.01.2024.)

Ministarstvo poljoprivrede – Pravilnik o vinogradarstvu (2022)

<https://www.zakon.hr/cms.htm?id=52960> – Narodne novine – pristup 18.01.2024.

## 3.2. 'Babić crni'

Sinonimi ove sorte su: 'Šibenčanac', 'Rogozničanin' i 'Rogoznička'. Spada u kategoriju ugroženosti LC, što označuje najmanje zabrinjavajuću kategoriju ugroženosti. Smatra se autohtonom hrvatskom sortom jer ima jedinstveni genetski profil. Činjenica da je u bliskoj rodbinskoj vezi sa sortom 'Dobričić', koja je jedan od roditelja 'Plavca malog' potvrđuje da pripada dalmatinskoj grupi sorti (Maletić i sur., 2015.). Tradicionalno se ova sorta vinove loze uzgajala u okolici grada Šibenika. Tijekom obnove vinogradarskih područja nakon epidemije filokse, ova je sorta stekla na značaju i proširila se na znatno većim površinama. Poznata pod nazivom 'Rogoznička', bila je specifično uzgajana i na području Kaštela, gdje je smatrana autohtonom sortom. Suvremena istraživanja su potvrdila da sorte 'Rogoznička' i 'Babić crni' dijele identičan genetički profil, što znači da su sinonimi za istu genetsku sortu vinove loze (Maletić i sur., 2015.).

Prema službenim podacima iz 2022. godine koje je objavila APPRRR (Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju), uzgaja se na površini od 287,04 ha, a zabilježena je brojka od 1.758.631 trsova.

Trs vinove loze ove sorte karakterizira srednje kasno otvaranje pupova i sazrijevanje u III. razdoblju. Bujnost trsa je umjerena do srednje izražena, s tankim mladicama horizontalnog rasta. Što se tiče osjetljivosti, sorta je podložna glavnim gljivičnim bolestima, posebno plamenjači, te umjereno podložna pepelnici i sivoj plijesni u uvjetima visoke vlažnosti. Što se tiče rodnosti, redovito donosi plodove, s obiljem na plodnim tlima. Kvaliteta grožđa i vina ovisi o okolišnim i uzgojnim uvjetima. Na povoljnim položajima, proizvodi čuvena vina visoke kvalitete, karakterizirana jakim alkoholom, punim tijelom i izraženom bojom. No, na plodnim tlima, kvaliteta može biti samo prosječna ili ispodprosječna (Maletić i sur., 2015.).

'Babić crni' je značajna dalmatinska sorta s varijabilnim prinosima i kvalitetom grožđa. Ima visok potencijal, ali postizanje punog izraza zahtjeva odgovarajuće položaje, poput onih u južnim dijelovima Primoštena. Najpoznatiji vinogradi ove sorte smješteni su na poznatim primoštenskim terasama, gdje, unatoč niskim prinosima, postiže se vrhunska kvaliteta grožđa. Nasuprot tome, na dubokim, plodnim tlima, gdje sorta obilato rodi, vina su niže do srednje kvalitete, često neharmonična, slabog tijela i boje. Uz redovitu berbu, sušenjem grožđa ove sorte može se stvoriti sirovina za vrhunski prošek (Maletić i sur., 2015.).

Sortna vina su rubinski crvene, intenzivne boje, puna su i jaka, a na okus mekana. Ne traže dužeg dozrijevanja te se mogu konzumirati kao mlada vina (Mirošević i Karoglan Kontić 2008.).



Slika 2. Grozd sorte 'Babić crni'  
(Izvor: autor)

### 3.3. Metoda aplikacije inaktivnih kvasaca

Preporučena doza primjene proizvoda „LalVigne® AROMA“ na vinovoj lozi iznosi 3 kg /ha. Ovo istraživanje provedeno je na 50 tretiranih trsova vinove loze sorte 'Babić crni' te na 50 kontrolnih. Uz pomoć računskih operacija dobivena je sveukupna količina od 40 g za ovaj broj trsova iz čega se zaključuje da je po jednom trsu primijenjeno 0.8 g frakcije inaktivnih kvasaca po aplikaciji. Tretiranje se provodi u jednom tretmanu s dvije folijarne aplikacije. Prva aplikacija vrši se na početku šare (oko 5%), a druga između sedam do četrnaest dana nakon prve aplikacije (idealni vremenski razmak je deset do dvanaest dana nakon) (Lallemant, 2018.). Proizvođač preporučuje da se napravi suspenzija proizvoda u otprilike deset puta njegove težine u vodi kako bi se dobio idealan omjer vode i 100%-tne frakcije inaktivnog kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Zatim se otopina dodaje u spremnik prskalice s minimalnom količinom vode koja omogućava homogeno prskanje, izbjegavajući višak vode koji može uzrokovati gubitak proizvoda kapanjem. Prskanje se vrši folijarno po čitavoj lisnoj masi (Lallemant, 2018.).



Slika 3. Prva folijarna aplikacija otopine inaktivnih kvasaca u vodi  
(Izvor: autor)

Pokus je postavljen po metodi slučajnog bloknoeg rasporeda u tri ponavljanja s dvije varijante: kontrola i tretman. Tretman predstavlja folijarnu aplikaciju inaktivnog kvasca prema uputi proizvođača (na početku šare te nakon 15 dana). Svaka varijanata je zastupljena s 50 trsova po ponavljanju. U tehnološkoj zrelosti utvrdio se broj grozdova po trsu, prosječna masa grozda te prinos. Na uzorcima grožđa utvrđena je masa grozdova, sadržaj šećera, ukupna kiselost, pH vrijednost, koncentracija polifenola i organskih kiselina te sadržaj dušika u moštu. Od varijante odvojio se uzorak od 300 bobica, nasumičnim odabirom s različitih grozdova i položaja grozda, nakon čega će se također nasumično uzorak od 300 bobica razdijeliti u 3 uzorka koji će predstavljati ponavljanja.



Slika 4. Priprema grožđa za izradu uzoraka  
(Izvor: autor)

### 3.4. Metode analiza

Sve ampelografske i kemijske analize provedene su na Agronomskom fakultetu u Zagrebu standardnim metodama prema OIV-u (International Organisation of Vine and Wine). Analizom varijance odredit će se postoje li značajne (signifikantne) razlike između pojedinih pokusnih varijanata. Primjenom multivarijantnih analiza odredit će se koji spojevi nose najviše varijabilnosti između pokusnih varijanata.

#### **Masa grozdova**

Masa pojedinačnih tretiranih i netretiranih grozdova mjerila se na preciznoj digitalnoj vagi koja zaokružuje na dvije decimale.



Slika 5. Mjerenje mase grozdova na digitalnoj vagi  
(Izvor: autor)

#### **Sadržaj šećera**

Sadržaj šećera izražavao se u Oeschelovim stupnjevima (Oe°). Određen je refraktometrom.

#### **Ukupna kiselost**

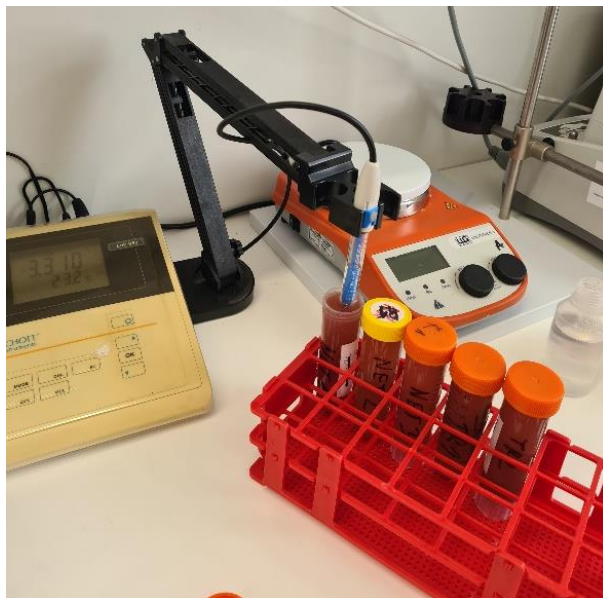
Ukupna kiselost se mjerila na način da je u tikvicu ispipetirano 10 mL uzorka te se dodalo nekoliko kapi bromtimol plavog koji služi kao indikator. Titriralo se s 0,1M natrijevom lužinom (NaOH) do pojave plavo-maslinasto zelene boje, te se na osnovi njezinog utroška izračunavala ukupna kiselost koja se izražava kao vinska kiselina u g/L. Formula za izračun ukupne kiselosti glasi:

Ukupna kiselost (g/L kao vinska kiselina) = mL utrošene 0,1M NaOH x 0,0075 x 100

Množi se s 0,0075 iz razloga što 1 mL 0,1 molarne NaOH neutralizira 0,0075 g vinske kiseline. Nadalje, množi se sa 100 jer se konačni rezultat mora dobiti u litrama.

#### **Realna kiselost**

Realna kiselost mjerila se pH-metrom Lab 850 proizvođača „Schott“



Slika 7. Mjerenje realne kiselosti pH-metrom  
(Izvor: autor)

#### ***Analiza pojedinačnih organskih kiselina u moštu***

Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina (vinske, jabučne, limunske) u moštu određen je pomoću HPLC-a (High-Performance Liquid Chromatography), iz prosječnog uzorka svježe iscijeđenog, centrifugiranog i pročišćenog mošta (Zoecklen i sur., 1995.). Analiza je provedena uz izokratno eluiranje pri protoku od 0,6 mL/min, temperaturu kolone od 65 °C i detekciju pri 210 nm. Korištena kolona bila je kationski izmjenjivač Aminex 70 HPX-87H 300 x 7,8 mm i.d. (Bio-Rad Laboratories, Hercules CA) dok je kao mobilna faza korištena 0,0065 %-tna vodena otopina fosforne kiseline (Zoecklein, 1995.).

#### ***Analiza pojedinačnih polifenola iz kožica grožđa***

Priprema kožica za analizu: Kožice grožđa ručno su uklonjene sa smrznutih bobica te su liofilizirane. Samljevene su u fini prah pomoću mlina MiniG Mill te pohranjene u zamrzivač na -20 °C do analize. Provedena je ekstrakcija čvrsto-tekuće uz smjesu otapala acetonitril:mravlja kiselina:voda (20:1:79, v/v/v), a dobiveni ekstrakt filtriran je primjenom membranskog filtra.

Analiza je provedena na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (HPLC). Za razdvajanje pojedinih polifenola korištena je kolona Luna Phenyl-Hexyl (4,6 × 250 mm; 5 μm veličina čestica), kao pokretne faze korištene su vodena otopina fosforne kiseline (otapalo A) te vodena otopina fosforne kiseline i acetonitrila (otapalo B) dok je detekcija provedena uporabom fluorescencijskog detektora (FLD) te detektora s nizom fotodioda (DAD).

#### ***Analiza sadržaja dušika u moštu***

Sadržaj slobodnog amino dušika (FAN) odrediti će se metodom derivatizacije uz o-ftaldialdehid i N-acetil cistein kao derivatizacijske reagense, sadržaj amonijaka (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) odrediti će se primjenom ion selektivne elektrode, dok će se sadržaj ukupnog dušika (YAN) iskazati kao zbroj vrijednosti FAN i NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

### ***Statistička analiza podataka***

Značajnost razlika između pokusnih varijanata utvrđena je primjenom jednosmjerne analize varijance (engl. One-Way ANOVA). Usporedba srednjih vrijednosti provedena je pomoću „Duncan Multiple Range“ testa. Statističke analize provedene su pomoću XLSTAT (Addinsoft, 2021, New York, SAD) statističkog softvera.

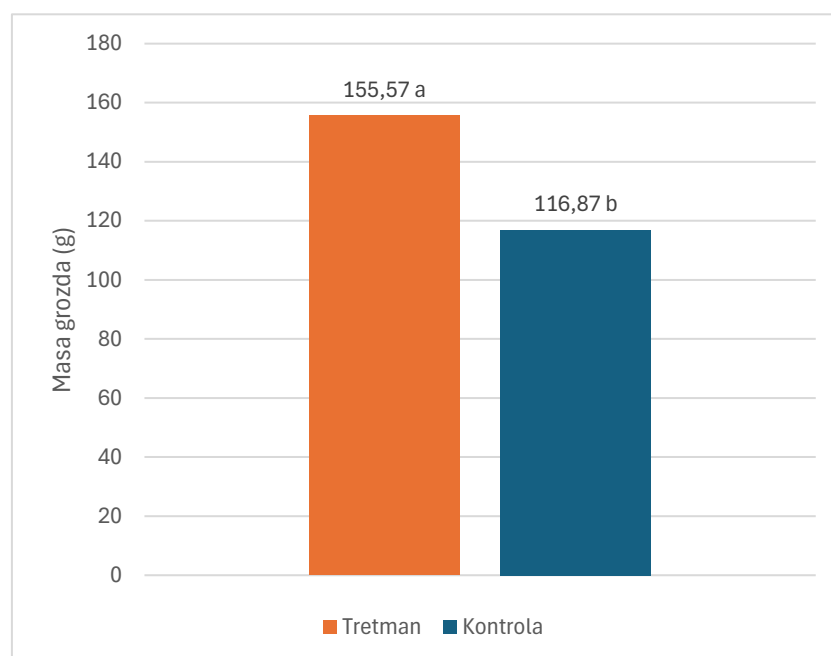


## 4. Rezultati i rasprava

Analiza je provedena na tretiranim i kontrolnim uzorcima. Tretirani uzorak odnosi se na uzorak tretiran proizvodom „LaVigne® AROMA“, dok se kontrolni uzorak odnosi na netretiran uzorak. Na uzorcima grožđa utvrđena je masa grozdova, sadržaj šećera, ukupna kiselost, pH vrijednost, koncentracija polifenola i organskih kiselina te sadržaj dušika u moštu. Provedena analiza jasno pokazuje da tretman inaktivnim kvascima „LaVigne® AROMA“ ima značajan utjecaj na masu grozdova, na sadržaj dušika i polifenola. Međutim, na sadržaj šećera, pH vrijednost mošta, sadržaj organskih kiselina i ukupnu kiselost mošta nije utvrđen značajan utjecaj. Ovi nalazi sugeriraju da tretman može biti koristan alat za povećanje prinosa i poboljšanje specifičnih kemijskih i senzorskih osobina vina, dok neki parametri ostaju nepromijenjeni.

### 4.1. Masa grozdova

Na grafikonu 1. prikazane su vrijednosti prosječne mase grozdova tretiranih i kontrolnih uzoraka izraženih u gramima. Prosječna masa tretiranih uzoraka dobivena je kao prosječna vrijednost mase 15 uzoraka te iznosi 155,57 g. Prosječna masa kontrolnih uzoraka dobivena je na isti način te iznosi 116,87 g.



Grafikon 1. Prosječna masa grozda pokusnih varijanata (g)

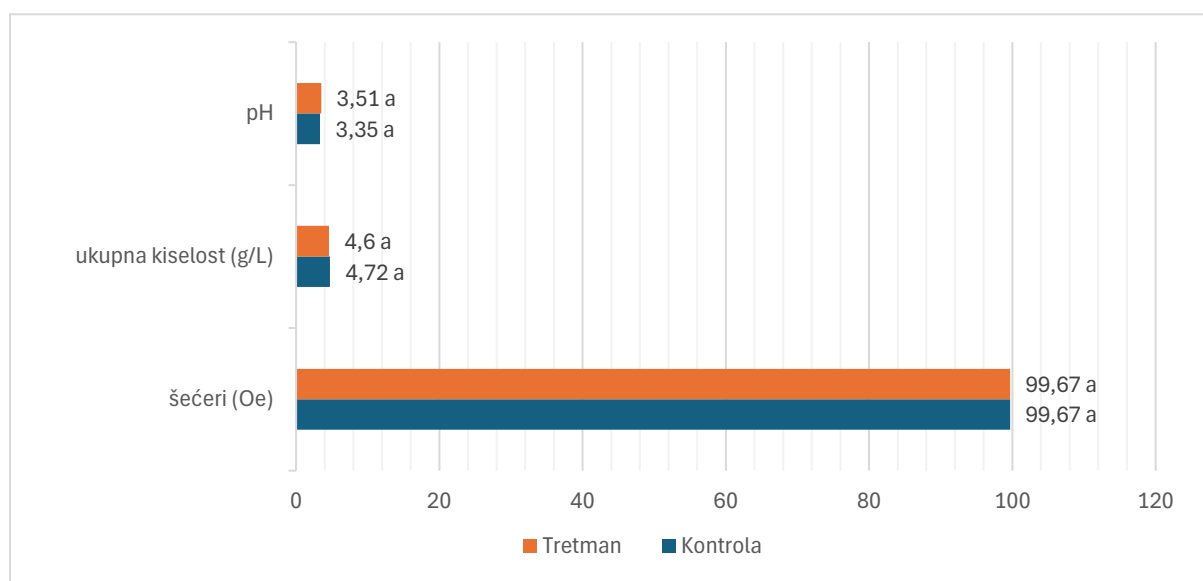
\*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ testa

Rezultati analize prikazuju značajne razlike u masi grozdova kontrolnih grozdova i tretiranih s „LaVigne® AROMA“ inaktivnim kvascima. Značajno je povećana masa tretiranih grozdova sorte 'Babić crni'. Prosječna masa tretiranih grozdova iznosila je 155,57 g, što je za 24,88% više u odnosu na kontrolne uzorke čija prosječna masa iznosi 116,87 g. Ova razlika može se pripisati stimulativnom učinku tretmana na rast i razvoj grozdova. Veća masa grozdova može dovesti do povećane produktivnosti vinograda, što je od velikog značaja za vinogradare.

Šuklje i sur. (2016.) istraživali su prvotno utjecaj folijarne primjene inaktivnih suhih kvasaca na aromu vina sorte Sauvignon Blanc. Njihovo istraživanje nije zabilježilo promjene u masi grozdova, dok su rezultati ovoga rada pokazali povećanje mase tretiranih uzoraka za 24,88%. Istraživanje autora Portu i sur. (2016.) odnosilo se na utjecaj folijarne primjene inaktivnih suhih kvasaca na grožđe i vino sorte Tempranillo. Također kao i Šuklje i sur. (2016.) nisu zabilježili promjene u masi grozdova.

## 4.2. Osnovna kemijska analiza mošta

Osnovnom kemijskom analizom mošta dobivenog od sorte 'Babić crni' utvrđene su vrijednosti prosječnog sadržaja šećera, ukupne kiselosti i realne kiselosti. Prema rezultatima osnovne kemijske analize mošta na prosječan sadržaj šećera utvrđeno je da nema nikakve razlike u sadržaju šećera kod tretiranih i kontrolnih uzoraka. Kao prosječna vrijednost tretiranih i kontrolnih uzoraka kod oba utvrđena je vrijednost od 99,67 Oe°. Prosječan sadržaj ukupnih kiselina kod tretiranih uzoraka iznosi 4,6 g/L dok kod kontrolnih iznosi 4,72 g/L. Primjenom jednosmjerne analize varijance (ANOVA) utvrđeno je da nema značajne razlike kod tretiranih i kontrolnih uzoraka u sadržaju ukupnih kiselina mošta sorte 'Babić crni'. Prosječna realna kiselost (pH) tretiranih uzoraka iznosi 3,51 dok kod netretiranih uzoraka pH vrijednost iznosi 3,35. Primjenom jednosmjerne analize varijance utvrđeno je da nema značajne razlike u realnoj kiselosti ovih uzoraka. Realna kiselost tretiranih uzoraka viša je za 0,16 g/L nego kod kontrolnih.



Grafikon 2. Prosječne vrijednosti osnovnih kemijskih pokazatelja kvalitete mošta pokusnih varijanata  
 \*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ testa

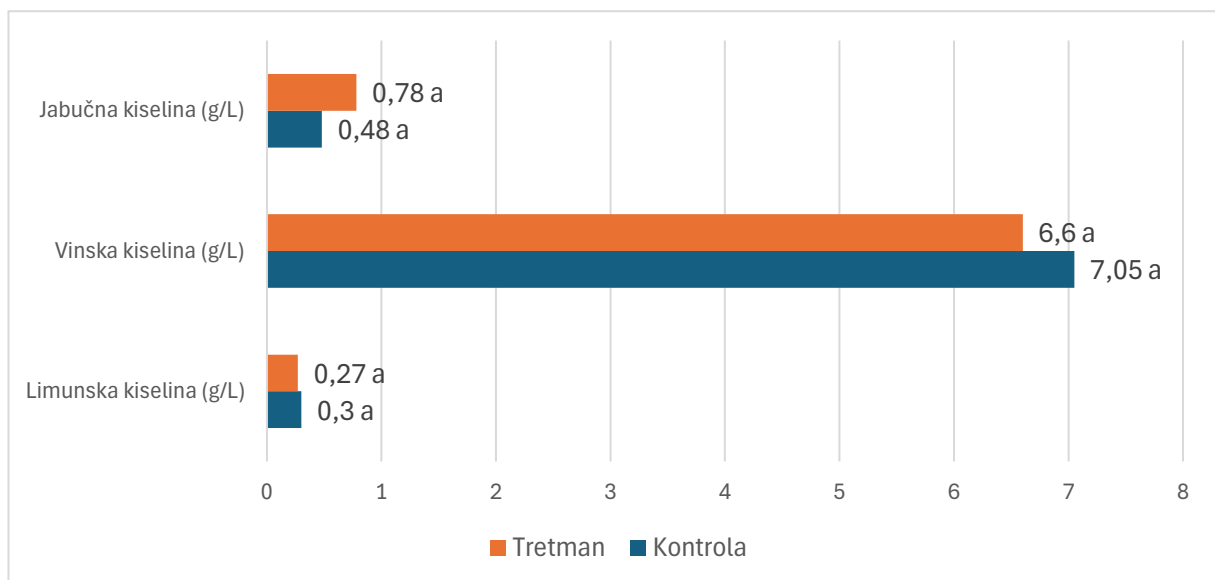
Osnovna kemijska analiza mošta pokazuje da tretman nije imao značajan utjecaj na sadržaj šećera, ukupnu kiselost i realnu kiselost.

Autori Šuklje i sur. (2016.) te autori Portu i sur. (2016.) nisu zabilježili značajne promjene u sadržaju šećera, što se podudara s rezultatima ovog istraživanja (99,67 Oe°). Porast realne kiselosti (pH vrijednosti) za 0,1 koji u svojem istraživanju bilježe Portu i sur. (2016.) je u skladu s neznačajnim povećanjem realne kiselosti od 0,16 u ovom istraživanju. Villangó i sur. (2015.) istraživali su utjecaj primjene inaktivnih suhih kvasaca na sazrijevanje grožđa sorte Syrah. U njihovom istraživanju također sadržaj šećera nije bio značajno promijenjen. Povećanje realne kiselosti za 0,2 u njihovom istraživanju slično je neznačajnom povećanju realne kiselosti od 0,16 u ovom istraživanju.

Povećana pH vrijednost može ukazivati na smanjenje koncentracije slobodnih vodikovih iona, što je važno za kontrolu fermentacije i stabilnost vina.

### 4.3. Analiza pojedinačnih organskih kiselina u moštu

Analiza pojedinačnih organskih kiselina (jabučne, vinske i limunske) mošta sorte 'Babić crni' također je provedena na tretiranim i kontrolnim uzorcima. Prosječne vrijednost tretiranih uzoraka iznose 0,78 g/L jabučne kiseline, 6,6 g/L vinske kiseline i 0,27 g/L limunske kiseline. Prosječne vrijednosti kontrolnih uzoraka iznose 0,48 g/L jabučne kiseline, 7,05 g/L vinske kiseline i 0,3 g/L limunske kiseline (Grafikon 3). Prema rezultatima analize organskih kiselina mošta utvrđeno je da nema značajne razlike u njihovom sadržaju u odnosu tretiranih i kontrolnih uzoraka. Unatoč tome što nema značajne razlike između uzoraka, tretiran uzorak ima viši sadržaj jabučne kiseline za 38,47% naspram kontrolnog uzorka. Sadržaj vinske kiseline viši je u kontrolnom uzorku za 6,38% nego u tretiranom, a sadržaj limunske kiseline je također viši u kontrolnom nego u tretiranom uzorku za 10%.



Grafikon 3. Prosječne vrijednosti sadržaja organskih kiselina pokusnih varijanata (g)

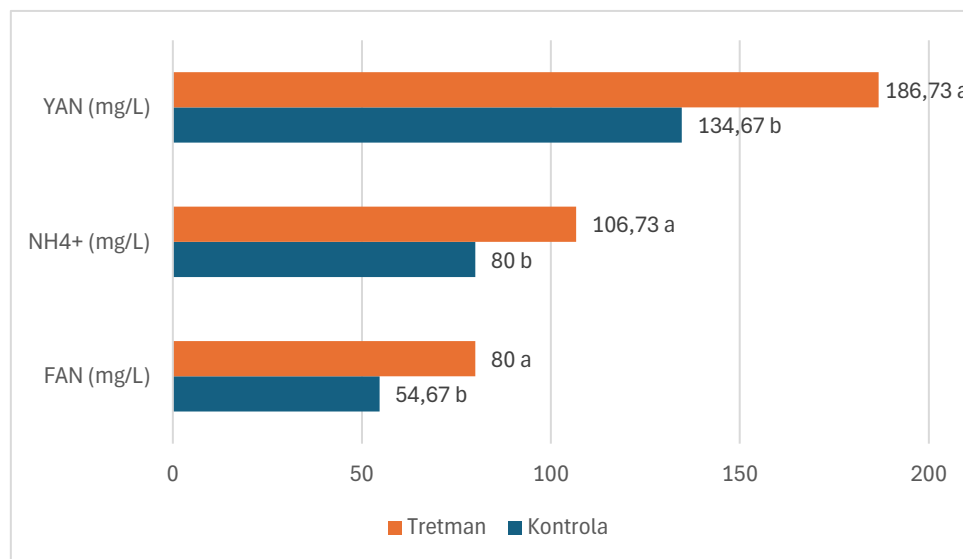
\*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ testa

U istraživanju autora Šuklje i sur. (2016.) zabilježeno je značajno povećanje sadržaja vinske kiseline, što se protivi nalazima ovog rada, dok u sadržaju jabučne kiseline nema značajne promjene, slično kao i u ovom istraživanju. Smanjenje jabučne kiseline za 10% i povećanje vinske kiseline za 5% u istraživanju autora Portu i sur. (2016.) također nije u skladu s nalazima o sadržaju jabučne i vinske kiseline u ovom istraživanju. Smanjenje sadržaja limunske kiseline za 15% u istraživanju Villangó i sur. (2015.) u skladu je s neznačajnim smanjenjem sadržaja limunske kiseline za 10% u ovom istraživanju.

Različiti omjeri organskih kiselina mogu utjecati na percepciju kiselosti i svježine vina te je važno proučiti kako ovi omjeri djeluju na senzorske karakteristike krajnjeg proizvoda.

#### 4.4. Analiza sadržaja dušika u moštu

Analizom sadržaja dušika u moštu utvrđen je sadržaj slobodnog amino dušika (FAN), sadržaj amonijaka ( $\text{NH}_4^+$ ) te ukupan sadržaj dušika (YAN). Analiza je provedena na tretiranim i kontrolnim uzorcima. Prosječna vrijednost tretiranih uzoraka slobodnog amino dušika (FAN) iznosi 80 mg N/L dok kod kontrolnih uzoraka prosječna vrijednost slobodnog amino dušika iznosi 54,67 mg N/L. Prosječna vrijednost sadržaja amonijaka ( $\text{NH}_4^+$ ) kod tretiranih uzoraka iznosi 106,73 mg  $\text{NH}_4^+$ /L dok kod kontrolnih uzoraka prosječna vrijednost sadržaja amonijaka iznosi 80 mg  $\text{NH}_4^+$ /L. Prosječna vrijednost ukupnog sadržaja dušika kod tretiranih uzoraka iznosi 186,73 mg N/L dok kod kontrolnih uzoraka prosječna vrijednost ukupnog sadržaja dušika iznosi 134,67 mg N/L. Prema rezultatima analize sadržaja dušika u moštu, utvrđene su značajne razlike kod kontrolnih i tretiranih uzoraka u obliku slobodnog amino dušika, amonijaka te posljedično i u ukupnom sadržaju dušika.



Grafikon 4. Prosječne vrijednosti sadržaja slobodnog amino dušika, amonijaka i ukupnog sadržaja dušika pokusnih varijanata

\*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ test

Rezultati analize dušika pokazuju značajne razlike između tretiranih i kontrolnih uzoraka. Tretirani uzorci imali su viši sadržaj slobodnog amino dušika (za 31,66%), amonijaka (za 25,04%) i ukupnog sadržaja dušika (za 27,88%) u odnosu na kontrolne uzorke.

Povećanje sadržaja slobodnog amino dušika (FAN) za 20% u istraživanju autora Šuklje i sur. (2016.) slaže se s nešto većim povećanjem od 31,66%, dok se povećanje sadržaja amonijaka također slaže s nalazima ovoga istraživanja (25,04%). Povećanje ukupnog sadržaja dušika (YAN) za 25% u istraživanju Portu i sur. (2016.) je vrlo slično povećanju od 27,88% koje je navedeno u ovom istraživanju. Kao i kod prethodno navedenih autora, Villangó i sur. (2015.) utvrđuju povećanje sadržaja slobodnog amino dušika za 30% i amonijaka za 15% u njihovom istraživanju. U svakom od navedenih istraživanja uočeno je povećanje ukupnog sadržaja dušika kod tretiranih uzoraka u usporedbi s kontrolnim uzorcima što je dosljedno rezultatima ovog istraživanja.

Povećan sadržaj dušika je kritičan za fermentaciju, jer osigurava adekvatne hranjive tvari za kvasce, čime se poboljšava njihova aktivnost i stabilnost fermentacijskog procesa što ukazuje na važnost daljnjih istraživanja u ovom području.

## 4.5. Analiza pojedinačnih polifenola iz kožica grožđa

Tablica 1. Prosječni sadržaj pojedinačnih polifenola pokusnih varijanata izražen u  $\mu\text{g/g}$

Polifenol	Kontrola	Tretman
Cijanidin-3- <i>O</i> -acetilglukozid	0,00	0,00
Cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	5,29 b	8,41 a
Cijanidin-3- <i>O</i> -kumarilglukozid	0,23 a	0,26 a
Delfinidin-3-glukozid	20,56 b	25,24 a
Delfinidin-3- <i>O</i> -acetilglukozid	0,39 a	0,03 b
Delfinidin-3- <i>O</i> -kafeoilglukozid	0,00	0,00
Delfinidin-3- <i>O</i> -kumarilglukozid	0,00	0,00
Malvidin-3-glukozid	139,31 b	172,62 a
Malvidin-3- <i>O</i> -acetilglukozid	11,13 a	12,37 a
Malvidin-3- <i>O</i> -kafeoilglukozid	10,40 a	11,54 a
Malvidin-3- <i>O</i> -kumarilglukozid	54,38 b	62,59 a
Peonidin-3-glukozid	18,94 b	30,64 a
Peonidin-3- <i>O</i> -acetilglukozid	3,86 a	0,00 b
Peonidin-3- <i>O</i> -kafeoilglukozid	0,00 b	0,27 a
Peonidin-3- <i>O</i> -kumarilglukozid	3,95 b	6,44 a
Petinidin-3- <i>O</i> -kumarilglukozid	0,00	0,00
Petunidin-3-glukozid	29,85 b	36,47 a
Petunidin-3- <i>O</i> -acetilglukozid	0,00 a	0,00 a
Petunidin-3- <i>O</i> -kafeoilglukozid	0,00 a	0,00 a
Izoramnetin-3- <i>O</i> -glukozid	1,98 a	1,62 b
Kemferol-3- <i>O</i> -glukonorid	3,90 a	4,18 a
Kemferol-3- <i>O</i> -glukozid	16,18 a	11,00 b
Kemferol-3- <i>O</i> -rutinozid	2,32 a	0,73 b

Kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	32,55 a	25,55 b
Kvercetin-3- <i>O</i> -glukonorid	3,80 a	3,84 a
Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	37,61 a	28,02 b
Miricetin-3- <i>O</i> -galaktozid	5,71 b	29,99 a
Miricetin-3- <i>O</i> -glukozid	26,19 a	4,18 b
Miricetin-3- <i>O</i> -glukuronid	0,17 a	1,26 b
Rutin	0,00	0,00
Siringentin-3- <i>O</i> -glukozid	0,00	0,00
Fertarinska kiselina	0,79 a	0,78 a
Ferulinska kiselina	1,35 a	1,14 b
Kafeinska kiselina	2,08 a	2,21 a
Kaftarinska kiselina	64,10 a	73,32 a
Kumarinska kiselina	0,00	0,00
Kutarinska kiselina	10,37 b	12,14 a
Epigalokatehin-galat	0,00	0,00
Epikatehin-galat	0,00	0,00
Galna kiselina	0,00	0,00
Prokatehinska	8,01 a	3,78 b
Vaniljska kiselina	9,86 a	10,89 a
Resveratrol-3- <i>O</i> -glukozid	7,22 b	9,14 a
Epigalokatehin	22,34 a	21,77 a
Epikatehin	25,74 a	28,41 a
Galokatehin	0,00	0,00
Katehin	67,42 a	48,29 b
Procijanidin B1	24,75 a	23,67 a
Procijanidin B2	11,41 b	15,51 a
Procijanidin B3	9,67 a	8,53 a
Procijanidin B4	4,84 b	6,58 a

\*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ testa

U tablici 1. prikazana je analiza sadržaja pojedinačnih polifenola u kontrolnoj varijanti i varijanti tretiranom „LalVigne® AROMA“. Mjerna jedinica u kojoj je izražen sadržaj je mikrogram po gramu ( $\mu\text{g/g}$ ). Iz rezultata je uočljivo da niti u kontrolnoj niti u tretiranoj varijanti nisu prisutni idući polifenoli: cijanidin-3-*O*-acetilglukozid, delfinidin-3-*O*-kafeoilglukozid, delfinidin-3-*O*-kumarilglukozid, petinidin-3-*O*-kumarilglukozid, petunidin-3-*O*-acetilglukozid, petunidin-3-*O*-kafeoilglukozid, rutin, siringentin-3-*O*-glukozid, kumarinska kiselina, epigalokatehin-galat, epikatehin-galat, galna kiselina te galokatehin. Prisutnost polifenola peonidin-3-*O*-acetilglukozid utvrđena je samo u kontrolnom uzorku u koncentraciji od  $3,86 \mu\text{g/g}$  suhe tvari, dok je prisutnost polifenola peonidin-3-*O*-kafeoilglukozid utvrđena samo u tretiranom uzorku u koncentraciji od  $0,27 \mu\text{g/g}$  suhe tvari. Prema rezultatima analize pojedinačnih polifenola iz kožica grožđa, vidljivo je da se tretirana i kontrolna varijanta vrlo razlikuju po sadržaju istih. Prikazane srednje vrijednosti s različitim slovima u istom retku značajno se međusobno razlikuju prema Tukey-evom testu ( $p < 0,05$ ). Nema značajne razlike u sadržaju sljedećih

polifenola: cijanidin-3-*O*-kumarilglukozid, malvidin-3-*O*-acetilglukozid, malvidin-3-*O*-kafeoilglukozid, malvidin-3-*O*-kumarilglukozid, kemferol-3-*O*-glukonorid, kvercetin-3-*O*-glukonorid, fertarinska kiselina, kafeinska kiselina, kaftarinska kiselina, vaniljska kiselina, epigalokatehin, epikatehin, procijanidin B1 te procijanidin B3. Pojedinačni polifenoli sa značajno višom koncentracijom u tretiranom uzorku su: cijanidin-3-*O*-glukozid, delfinidin-3-*O*-glukozid, malvidin-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-kafeoilglukozid, petunidin-3-*O*-glukozid, miricetin-3-*O*-galaktozid, miricetin-3-*O*-glukuronid, kutarinska kiselina, resveratrol-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-kumarilglukozid, procijanidin B2 i procijanidin B4. Kontrolni uzorci imaju značajno višu koncentraciju sljedećih pojedinačnih polifenola: peonidin-3-*O*-acetilglukozid, prokatehinska kiselina, ferulinska kiselina, delfinidin-3-*O*-acetilglukozid, izoramnetin-3-*O*-glukozid, kemferol-3-*O*-glukozid, kemferol-3-*O*-rutinozid, kvercetin-3-*O*-galaktozid, kvercetin-3-*O*-glukozid, miricetin-3-*O*-glukozid te katehin.

Provedena analiza pokazuje da tretman inaktivnim kvascima „LalVigne® AROMA“ značajno mijenja profil polifenolnih spojeva u moštu sorte 'Babić crni'. Tretirani uzorci pokazali su viši sadržaj nekoliko ključnih polifenola u usporedbi s kontrolnim uzorcima. Primijećena je povećana koncentracija cijanidin-3-*O*-glukozida, delfinidin-3-*O*-glukozida i resveratrol-3-*O*-glukozida. Ovi spojevi su poznati po svojim jakim antioksidativnim svojstvima, što može doprinijeti boljoj stabilnosti vina i duljem vijeku trajanja. Povećana koncentracija resveratrol-3-*O*-glukozida, na primjer, može imati dodatne zdravstvene koristi za potrošače zbog svojih protuupalnih i kardioprotektivnih učinaka. Polifenoli značajno utječu na organoleptička svojstva vina. Cijanidin-3-*O*-glukozid i delfinidin-3-*O*-glukozid doprinose intenzivnijoj boji vina. Osim toga, polifenoli poput resveratrol-3-*O*-glukozida mogu dodati kompleksnost okusu i aromi, pružajući bogatiji i složeniji profil okusa. Povećana koncentracija ovih spojeva u tretiranim uzorcima može rezultirati vinom koje je ne samo estetski privlačnije, već i bogatije u okusu. Polifenoli su poznati po svojim antioksidativnim svojstvima, koja su važna za očuvanje kvalitete vina tijekom skladištenja. Tretirani uzorci, s višim sadržajem antioksidativnih polifenola imaju povećanu otpornost na oksidaciju, što rezultira duljim vijekom trajanja i očuvanjem kvalitete vina. Analiza je također pokazala da kontrolni uzorci imaju viši sadržaj polifenola kao što su peonidin-3-*O*-acetilglukozid, izoramnetin-3-*O*-glukozid i kvercetin-3-*O*-glukozid. Ovi spojevi također doprinose antioksidativnim svojstvima vina, ali mogu imati različit utjecaj na okus i aromu u usporedbi s polifenolima dominantnim u tretiranim uzorcima.

Uspoređujući polifenolni sastav grožđa, istraživanje autora Šuklje i sur. (2016.) pokazalo je povećanje flavonola kao što su kvercetin-3-*O*-glukozid i miricetin-3-*O*-glukozid što nije u skladu sa smanjenjem sadržaja istih spojeva u ovom istraživanju. Značajno povećanje antocijana kao što su malvidin-3-*O*-glukozid i delfinidin-3-*O*-glukozid u istraživanju autora Portu i sur. (2016.) je u skladu s rezultatima ovoga istraživanja koje je također pokazalo značajno povećanje navedenih polifenola. Povećanje procijanidina B2, procijanidina B4 te resveratrol-3-*O*-glukozida u istraživanju autora Villangó-a i sur. (2015.) je u skladu s povećanjem istih polifenola u ovom istraživanju.

Tablica 2. Prosječni sadržaj grupa polifenola pokusnih varijanata izražen u µg/g

Kategorija	Ukupni antocijani	Ukupni flavonol-glikozidi	Ukupne fenolne kiseline	Ukupni stilbeni (Resveratrol-3-O-glukozid)	Ukupni flavan-3-oli
Tretman	357,7 a	107,61 b	101,65 a	8,91 a	148,95 a
Kontrola	290,82 b	127,16 a	94,15 a	7,04 b	162,02 a

\*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajnost statističke razlike između pokusnih varijanata (uz  $p > 0,05$ ), korištenjem „Duncan's multiple range“ testa

U tablici 2. prikazana je analiza grupa polifenola u varijanti tretiranom „LaVigne® AROMA“ i kontrolnoj varijanti. Mjerna jedinica u kojoj je izražen sadržaj je mikrogram po gramu (µg/g). Iz rezultata je uočljivo da ukupnih antocijana u tretiranoj varijanti ima značajno više nego u kontrolnoj varijanti. Veći sadržaj antocijana u tretiranoj varijanti znači da bi vino moglo imati intenzivniju i dublju boju, što je često poželjna karakteristika vina crnih sorti uključujući sortu 'Babić crni'. Ukupnih stilbena također ima značajno više u tretiranoj nego u kontrolnoj varijanti. Stilbeni, poput resveratrol-3-O-glukozida, imaju antioksidativna svojstva koja mogu pozitivno utjecati na zdravlje konzumenata i doprinijeti dugovječnosti vina. Veći sadržaj stilbena u tretiranoj varijanti može rezultirati vinom koje je stabilnije tijekom starenja i ima veći potencijal za čuvanje. Također, stilbeni imaju visoke zdravstvene benefite za zdravlje ljudi. Ukupnih fenolnih kiselina također sadržajno ima više u tretiranoj varijanti, ali razlika nije značajna. Fenolne kiseline doprinose kiselosti i strukturi vina. Iako razlika u sadržaju fenolnih kiselina između tretirane i kontrolne varijante nije značajna, veći sadržaj u tretiranoj varijanti može blago utjecati na kiselost i kompleksnost okusa vina, pružajući mu dodatnu slojevitost. Nadalje, ukupnih flavonol-glikozida u kontrolnoj varijanti ima značajno više nego u varijanti tretiranom „LaVigne® AROMA“. Flavonol-glikozidi su povezani s gorkim i trpkim okusima u vinu. Značajno niži sadržaj ovih spojeva u tretiranoj varijanti može rezultirati vinom koje je manje gorko i trpko, što može poboljšati okus i pristupačnost vina široj publici sukladno ukusima potrošača. Ukupnih flavan-3-ola također ima više u kontrolnoj varijanti nego u tretiranoj, ali razlika nije značajna. Flavan-3-oli doprinose strukturi i tijelu vina, a također utječu na trpkost. Iako nije značajna razlika, viši sadržaj flavan-3-ola u kontrolnoj varijanti može rezultirati vinom imati nešto izraženije strukture i trpkosti.



## 5. Zaključak

Istraživanje ovoga rada provedeno je na grožđu hrvatske autohtone sorte vinove loze naziva 'Babić crni' kontrolnih uzoraka te uzoraka tretiranih 100%-tnom frakcijom inaktivnog kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, „LaVigne® AROMA“, proizvođača Lallemand. Pružilo je vrijedne uvide u utjecaj tretmana inaktivnog kvasca potrebne za analizu. Parametri koji su istraženi su: masa grozdova, sadržaj šećera, ukupna kiselost, realna kiselost, koncentracija polifenola i organskih kiselina te sadržaj dušika u moštu.

Primijećeno je značajno povećanje mase grozdova u tretiranim uzorcima u odnosu na kontrolne. To sugerira da tretman može pozitivno utjecati na razvoj grožđa ove sorte. Primjenom jednosmjerne analize varijance utvrđeno je da u osnovnoj kemijskoj analizi mošta nema značajnog utjecaja na sadržaj šećera, ukupnu kiselost i realnu kiselost. Također, analiza organskih kiselina pokazala je da nema značajne razlike između tretiranih i netretiranih uzoraka. Analiza sadržaja dušika pokazala je značajno povećanje sadržaja slobodnog amino dušika, amonijaka i ukupnog dušika u tretiranim uzorcima, što može biti važno za proces fermentacije i kvalitetu vina. Najznačajnije promjene uočene su u analizi pojedinačnih polifenola, gdje je tretman rezultirao povećanjem specifičnih polifenola poput cijanidin-*O*-glukozida, delphinidin-3-glukozida i resveratrol-3-*O*-glukozida. Ovi spojevi imaju važnu ulogu u stabilnosti i senzorskim karakteristikama vina, pružajući mu bogatiji profil okusa i aromu te povećanu otpornost na oksidaciju. Što se tiče analize polifenola po grupama, može se zaključiti da tretman s „LaVigne® AROMA“ može proizvesti vino intenzivnije obojenosti, bolje stabilnosti tijekom starenja i mekšeg okusnog profila s manje gorčine i trpkosti. S druge strane, kontrolna varijanta može proizvesti vino s izraženijom strukturom i trpkosti, što može biti poželjno za ljubitelje vina koji preferiraju tradicionalne karakteristike i kompleksnost.

Ovi rezultati sugeriraju da tretman inaktivnim kvascima može imati značajan utjecaj na svojstva grožđa sorte 'Babić crni' te potencijalno poboljšati kvalitetu vina. Usporedba rezultata ovog istraživanja s prethodnim radovima pokazuje dosljednost u nekoliko ključnih parametara, ali isto tako naglašava potrebu za daljnjim istraživanjem kako bi se bolje razumjele specifične uvjetne varijacije, posebno u promjenama organskih kiselina te polifenolnog sastava. Dodatna istraživanja potrebna su kako bi se bolje razumjeli mehanizmi djelovanja ovog tretmana i njegov utjecaj na različite sorte grožđa i uvjete uzgoja.

## 6. Popis literature

1. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, (2023). Godišnje izvješće o stanju u poljoprivredi u 2022. godini. Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb
2. Andabaka Ž., Jakobović F., Preiner D., Stupić D., Marković Z., Maletić E., Karoglan Kontić J., Šikuten I., Štambuk P., Tomaz I. Šeparović M., Karoglan M. (2020). Promjene sastava i sadržaja polifenolnih spojeva u listovima crnih sorata tijekom pojedinih fenofaza. *Agronomski glasnik*, Zagreb.
3. Andabaka Ž., Žarak M., Maletić E., Karoglan Kontić J., Preiner D., Marković Z., Stupić, Karoglan M., Anić M., Tomić M., Tomaz I., Šikuten I., (2022). Promjene u sastavu i sadržaju polifenolnih spojeva tijekom dozrijevanja crnih sorata vinove loze (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Central European Agriculture*, 23(4), p.851-861
4. Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional. *PubMed*. 56 (11): 317-333
5. Coombe B. G., McCarthy M. G., (2000). Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6, 131 – 135.
6. De Orduna R.M., (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*. 43:1844-1855.
7. Downey M. O., Dokoozlian N. K., Krstic M. P., (2006) Cultural Practice and Environmental Impacts on the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 257-268.
8. EEA (2019). EEA Report of Climate change adaptation in the agriculture sector in Europe No 4. Luxembourg: EEA. [online] <https://www.eea.europa.eu/publications/cc-adaptation-agriculture> - pristup 11.01.2024.
9. En-Qin X., Gui-Fang D., Ya-Jun G., Hua-Bin L. (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 622-646. [online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2852857/> - pristup 24.01.2024.
10. Europska agencija za okoliš (2021). Presudna važnost prilagodbe klimatskim promjenama za poljoprivredu u Europi. [online] <https://www.eea.europa.eu/hr/articles/presudna-vaznost-prilagodbe-klimatskim-promjenama> - pristup 11.01.2024.
11. Fazinić N., Fazinić M., (1997). Ekologija u službi hrvatskog vinogradarstva. *Agronomski glasnik*, 59 (5-6), 401-418. [online] <https://hrcak.srce.hr/file/216565> - pristup 01.03.2024.
12. Ferrari S., (2010.) Biological elicitors of plant secondary metabolites: Mode of action and use in the production of nutraceuticals. *Biofarms for nutraceuticals: Functional food and safety control by biosensors*, 152 – 166
13. Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsas, P. Bavaresco, L. (2013). Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 19651-19669. [online] <https://doi.org/10.3390/ijms141019651> – pristup 24.01.2024.
14. Fraga H., de Cortazar Atauri I.G., Santos J.A., (2018). Viticultural irrigation demands under climate change scenarios in Portugal. *Agricultural Water Management*. 196:66-74. [online] [https://econpapers.repec.org/article/eeeagiwat/v\\_3a196\\_3ay\\_3a2018\\_3ai\\_3ac\\_3ap\\_3a66-74.htm](https://econpapers.repec.org/article/eeeagiwat/v_3a196_3ay_3a2018_3ai_3ac_3ap_3a66-74.htm) - pristup 01.03.2024.

15. Fraga H., Pinto J.G., Santos J.A., (2019). Climate change projections for chilling and heat forcing conditions in European vineyards and olive orchards: A multi-model assessment. *Climatic Change*. ; 152:179-193. [online] [https://ideas.repec.org/a/spr/climat/v152y2019i1d10.1007\\_s10584-018-2337-5.html](https://ideas.repec.org/a/spr/climat/v152y2019i1d10.1007_s10584-018-2337-5.html) – pristup 27.02.2024.
16. Gabler F. M., Smilanick J. L., Mansour M., Ramming D. W., Mackey B. E., (2003.) Correlations of morphological, anatomical, and chemical features of grapes berries with resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 93, 1263 – 1273.
17. Garrido J. Borges F., (2013). Wine and Grape Polyphenols - a Chemical Perspective. *Food Research International*, 54, 1843-1858. [online] [https://recipp.ipp.pt/bitstream/10400.22/3523/5/ART\\_JorgeGarrido\\_2013\\_DEQ.pdf](https://recipp.ipp.pt/bitstream/10400.22/3523/5/ART_JorgeGarrido_2013_DEQ.pdf) - pristup 25.01.2024.
18. Giacosa S., Ossola C., Botto R., Segade S.R., Paissoni M.A., Pollon M., Gerbi V., Rolle, L., (2019.), Impact of specific inactive dry yeast application on grape skin mechanical properties, phenolic compounds extractability, and wine composition. *Food Research International* 116, 1084 – 1093
19. Godišnje izvješće o stanju poljoprivrede u 2022. godini (2023.) Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb [online] [https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/poljoprivredna\\_politika/zeleno\\_izvjesce/2023\\_11\\_16%20Zeleno%20izvje%C5%A1%C4%87e%202022%20web.pdf](https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/poljoprivredna_politika/zeleno_izvjesce/2023_11_16%20Zeleno%20izvje%C5%A1%C4%87e%202022%20web.pdf) - pristup 18.01.2024.
20. Guidoni S., Hunter J.J., (2012). Anthocyanin profile in berry skins and fermenting must/wine, as affected by grape ripe ness level of *Vitis vinifera* cv. Shiraz/R99. *Eur Food Res Technol* 235, 397–408. [online] <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1744-5> - pristup 27.02.2024
21. Hannah, L., Roehrdanz, P.R., Ikegami, M., Shepard, A.V., Shaw, M.R., Tabor, G., Zhi, L., Marquet, P.A., Hijmans, R.J. (2013) Climate change, wine, and conservation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 6907–6912. [online] <https://doi.org/10.1073/pnas.1210127110> - pristup 19.01.2024.
22. Hardaker, J.B., Lien, G., Anderson, J.R., Huirne, R.B.M. (2015). *Coping with Risk in Agriculture*. London: CABI Publishing.
23. International Organisation of Vine and Wine (2023.) State of the world vine and wine sector in 2022. [online] [https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV\\_State\\_of\\_the\\_world\\_Vine\\_and\\_Wine\\_sector\\_in\\_2022\\_2.pdf](https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV_State_of_the_world_Vine_and_Wine_sector_in_2022_2.pdf) - pristup 30.01.2024
24. Jones Gregory V., Webb Leanne B., (2010). Climate Change, Viticulture, and Wine: Challenges and Opportunities, *Journal of Wine Research*, 21: 2, 103 — 106
25. Karalić H. (2014). Polifenolne tvari u vinu (Završni rad). Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek
26. Karoglan Kontić J., Omazić B., Telišman Peternjak M., Karoglan M., Preiner D. (2023). Vodič za prilagodbu vinogradarske proizvodnje klimatskim promjenama. Hrvatska agencija za poljoprivredu i Hranu, Osijek.
27. Keller M., (2010). The science of grapevines. In *Anatomy and Physiology*, 1st ed., Elsevier Academic Press, 400. London, UK.
28. Kumar S., Bhatia A., (2023). Carbon Management for Climate Change Mitigation in Agriculture Sector. *ICAR-Indian Agricultural Research Institute, Indian Journal of Fertilisers* 19 (4) : 326-335. New Delhi

29. Lallemand, (2018). LalVigne AROMA: Grow your wine. Patent pending technology [online] <https://catalogapp.lallemandwine.com/uploads/lalvigne/docs/c56a8dfd266534a9a25d4a65af3cee439d75ea45.pdf> - pristup 15.01.2024.
30. Lazoglou G., Anagnostopoulou C., Koundouras S., (2018). Climate change projections for Greek viticulture as simulated by a regional climate model. *Theoretical and Applied Climatology*, 133(1), 551–567. [online] <https://doi.org/10.1007/s00704-017-2198-2> - pristup 26.02.2024.
31. Lorrain B., Ky I., Pechamat L. Teissedre P. L. (2013). Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts. *Molecules*, 18, 1076-1100 [online] <https://www.mdpi.com/1420-3049/18/1/1076> - pristup 24.01.2024.
32. Lüthi D., Le Floch M., Bereiter B., Blunier T., Barnola J.-M., Siegenthaler U., Raynaud D., Jouzel J., Fischer H., Kawamura K., Stocker T. F., (2008). High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000–800,000 years before present. *Nature* 453, 379–382 [online] <https://www.nature.com/articles/nature06949> - pristup 01.03.2024.
33. Lüthi D., le Floch M., Bereiter B., Blunier T., Barnola, J. M., Siegenthaler U., Raynaud D., Jouzel J., Fischer H., Kawamura, K., Stocker T. F. (2008.) High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000–800,000 years before present. *Nature*, 453(7193), 379–382.
34. Mahato A., (2014). Climate Change and its Impact on Agriculture. *International Journal of Scientific and Research Publications*, Vol. 4, travanj 2014. [online] [https://www.nswai.org/docs/Climate\\_change\\_impact\\_on\\_Agriculture.pdf](https://www.nswai.org/docs/Climate_change_impact_on_Agriculture.pdf) - pristup 01.03.2024.
35. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić, I., Preiner D., Zdunić G., Bubola M., Stupić D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015). *Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze*. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
36. Maletić E., Pejić I., Karoglan Kontić J. (2008). *Vinova loza - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb.
37. Martinez-Perez M. P., Bautista-Ortin A. B., Martinez-Moreno A., Gomez-Plaza E., (2023). The use of elicitors in viticulture: A tool to obtain highly colored wines with a reduced alcohol content?. University of Murcia, Campus de Espinardo, 30100 Murcia, Spain
38. Milat V., (2005). Stanje u vinogradarstvu i vinarstvu Republike Hrvatske. *Glasnik Zaštite Bilja*, Vol. 28 Br. 6.
39. Milella R.A., Antonacci D., Crupi, P., Incampo F., Carrieri C., Semeraro N., Colucci M., (2012). Skin Extracts from 2 Italian Table Grapes (Italia and Palieri) Inhibit Tissue Factor Expression by Human Blood Mononuclear Cells. *Journal of Food Science* 77, 154–159. [online] <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02818.x>
40. Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008). *Vinogradarstvo*. Naknadni Zavod Globus. Zagreb
41. Mosedale J.R., Wilson R.J., Maclean I.M., (2015). Climate change and crop exposure to adverse weather: changes to frost risk and grapevine flowering conditions. *PloS one*.
42. Ollat N., Van Leeuwen C., Garcia De Cortazar Atauri I., Touzard J. M., (2017). The challenging issue of climate change for sustainable grape and wine production. *OENO One*, 51(2), 59–60. [online] <https://doi.org/10.20870/oenone.2016.0.0.1872> - pristup 26.02.2024.
43. Peer W. A., Murphy A. S., (2007). Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? *Trends in Plant Science* 12 (12): 556-63. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18198522/> - pristup 02.02.2024.

44. Portu J., López R., Baroja E., Santamaría P., Garde-Cerdán T., (2016). Improvement of grape and wine phenolic content by foliar application to grape- vine of three different elicitors: methyl jasmonate, chitosan, and yeast extract. *Food Chemistry* 201, 213 – 221.
45. Pozo-Bayón M.Á., Andújar-Ortiz I., Moreno-Arribas M.V. (2009). Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. Instituto de Fermentaciones Industriales, Madrid.
46. Quideau S.; De eux D.; Douat-Casassus C.; Pouysegu L. (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties Biological Activities, and Synthesis. *Ang. Chem.*, 50, 586–621. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21226137/> - pristup 24.01.2024.
47. Radman R., Saez T., Bucke C., Keshavarz T., (2003). Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnol Appl Biochem.*, 91-102. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12578556/> - pristup 27.02.2024.
48. Ramakrishna A., Ravishankar G.A., (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6, 1720 – 1731.
49. Raza A., Razzaq A., Mehmood S. S., Zou X., Zhang X., Lv Y., Xu J., (2019). Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*, 12, 3423. [online] <https://doi.org/10.3390/plants12193423> - pristup 26.02.2024.
50. Rozema J., van de Staij J., Bjorn L. O., Caldwell M., (1997.) UV-B as an environmental factor in plant life: Stress and regulation. *Trends in Ecology & Evolution* 12 (1): 22-8. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21237957/> - pristup 02.02.2024.
51. Rubino M., Etheridge D. M., Trudinger C. M., Allison C. E., Battle M. O., Langenfelds R. L., Steele L. P., Curran M., Bender M., White J. W. C., Jenk T. M., Blunier T., Francey R. J. (2013). A revised 1000 year atmospheric  $\delta^{13}\text{C-CO}_2$  record from Law Dome and South Pole, Antarctica. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres*, 118, 8482–8499.
52. Santamaría A.R., Mulinacci N., Valletta A., Innocenti M., Pasqua G., (2011). Effects of elicitors on the production of resveratrol and viniferins in cell cultures of *Vitis vinifera* L. cv Italia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 9094 – 9101.
- secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 12, 1 – 12.
53. Shah M. H., Rafique R., Rafique T., Naseer M., Uzman K. Rafique R. (2021) - Effect of Climate Change on Polyphenols Accumulation in Grapevine British Library Cataloguing, London.
54. Šuklje K., Antalick G., Buica A., Coetzee Z.A., Brand J., Schmidtke L.M. & Vivier M.A., (2016). Inactive dry yeast application on grapes modify Sauvignon Blanc wine aroma. *Food Chemistry* 197, 1073 – 1084.
55. Thakur M., Bhattacharya S., Khosla P.K., Puri S., (2019.) Improving production of plant
56. Tiwari R., Rana C. (2015). Plant secondary metabolites: A review. *Int. J. Eng. Res. Gen. Sci.* 3, 661–670. [online] [https://www.researchgate.net/publication/282733096\\_Plant\\_secondary\\_metabolites\\_a\\_review](https://www.researchgate.net/publication/282733096_Plant_secondary_metabolites_a_review) - pristup 24.01.2024.
57. Tomaz I., (2016). Optimiranje priprave uzoraka za analizu polifenolnih spojeva u kožici grožđa tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. (Doktorski rad). Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb
58. Van Leeuwen C, Friant P, Chone X, Tregoat O, Koundouras S, Dubourdiou D., (2004). Influence of climate, soil, and cultivar on terroir. *American Journal of Enology and Viticulture*. 55:207-217. [online] <https://europepmc.org/article/AGR/IND43661265> -pristup 01.03.2024.

59. Zhao J., Davis L.T., Verpoort R., (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv* 23:283–333.
60. Zoecklein B. K., (1995). *Wine Analysis and Production*. New York: Chapman & Hall.

## Životopis

Matej Anić rođen je 31. Siječnja 2000. godine u gradu Šibeniku. Nakon završene osnovne škole 2014. godine, upisuje Gimnaziju Antuna Vrančića te maturira 2018. godine. Iste godine, upisuje preddiplomski studij Agroekologije na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. U lipnju 2021. godine brani završni rad na temu „Autohtone sorte vinove loze podregije Središnja bregovita Hrvatska“ i time završava preddiplomski studij Agroekologije. Na jesen iste godine nakon obavljene prakse u vinariji „Kozlović“ upisuje diplomski studij „Vinogradarstvo i vinarstvo“ također na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Koristi engleski jezik u govoru, slušanju i pisanju na C1 razini, a od ostalih stranih jezika poznaje osnove talijanskog, španjolskog i portugalskog. Posjeduje vozačku dozvolu B kategorije za automobil i B kategoriju za brod.

Slobodno vrijeme pokušava što više provoditi u doticaju s prirodom te putovati. Bio je na međunarodnoj razmjeni studenata u sklopu programa „Erasmus“ 5 mjeseci u Portugalu. Također voli provoditi vrijeme u župi sv. Petra u Šibeniku te baviti se sportom i ribolovom na otoku Zlarinu. Oduvijek zainteresiran za poljoprivredu, posebno za održiv i ekološki oblik poljoprivrede, a posljednjih nekoliko godina sve veću zainteresiranost privlači vinogradarstvu i vinarstvu. Trenutno je zaposlen preko Student servisa u vinariji „Baraka“.