

# Značaj dodatka hranjiva za kvasce u proizvodnji vina Graševina i Pinot crni

---

**Sirovica, Silvia**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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:204:711255>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-27**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**ZNAČAJ DODATKA HRANJIVA ZA KVASCE U  
PROIZVODNJI VINA GRAŠEVINA I PINOT CRNI**

DIPLOMSKI RAD

Silvia Sirovica

Zagreb, rujan, 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Vinogradarstvo i vinarstvo

**ZNAČAJ DODATKA HRANJIVA ZA KVASCE U  
PROIZVODNJI VINA GRAŠEVINA I PINOT CRNI**

DIPLOMSKI RAD

Silvia Sirovica

Mentor:

Prof.dr.sc. Ana Jeromel

Zagreb, rujan, 2023.  
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**IZJAVA STUDENTA**  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Silvia Sirovica**, JMBAG 0178117345, rođen/a 23.07.1999 u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**ZNAČAJ DODATKA HRANJIVA ZA KVASCE U PROIZVODNJI VINA 'GRAŠEVINA' I 'PINOT 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 / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studentice Silvije Sirovica, JMBAG 0178117345, naslova

**ZNAČAJ DODATKA HRANJIVA ZA KVASCE U PROIZVODNJI VINA GRAŠEVINA I PINOT CRNI**

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

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Prof.dr.sc. Ana Jeromel, mentor

\_\_\_\_\_

2. Izv.prof.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, član

\_\_\_\_\_

3. Prof.dr.sc. Marko Karoglan, član

\_\_\_\_\_

## Zahvala

Ovime posebno zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Ani Jeromel na pomoći, strpljenju i uloženom trudu tijekom pisanja diplomskog rada, te na svim danim smjernicama, literaturi i istraživanjima koji su pomogli u pisanju ovog rada.

Hvala mojoj obitelji i dečku na strpljenju, razumijevanju, ljubavi i podršci tijekom mog cijelog školovanja.

Hvala mojim curama iz Jaske na svemu.

Hvala mojim najboljim kolegicama sa fakulteta uz koje mi je studiranje bilo zanimljivije i manje stresno.

I hvala svim mojim profesorima i djelatnicima Zavoda za vinarstvo i vinogradarstvo koji su mi prenijeli nova znanja i definitivno potvrdili da je ovo poziv kojim se želim baviti u životu.

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled literature .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1. Sorta 'Graševina' .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1.1. Karakteristike sorte 'Graševina' .....	2
2.2. Sorta 'Pinot crni'.....	3
2.2.1. Karakteristike sorte 'Pinot crni' .....	3
2.3. Položaj Zajčevka.....	4
2.4. Važnost postupka rehidracije kvasaca .....	5
2.5. Kvasci.....	7
2.5.1. Saccharomyces kvasci.....	8
3. Materijali i metode.....	9
3.1. Kvasci korišteni u istraživanju.....	9
3.1.1. Lalvin D 254.....	9
3.1.2. Enoferm Rp15.....	9
3.1.3. Lalvin D 47.....	10
3.1.4. Lalvin QA23.....	10
3.2. Hranjiva.....	11
3.2.1. Go-Ferm Protect Evolution™ .....	11
3.2.2. Go-Ferm Sterol Flash™.....	11

3.3. Provođenje pokusa.....	12
3.4. Osnovna fizikalno-kemijska analiza.....	15
3.5. Određivanje hlapljivih aromatskih spojeva .....	16
4. Rezultati i rasprava.....	17
4.1. Osnovni kemijski sastav mošta .....	17
4.2. Brojanje stanica kvasaca.....	18
4.3. Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina.....	22
4.4. Aromatski profil vina.....	24
4.4.1. Viši alkoholi .....	24
4.4.2. Esteri.....	26
5. Zaključak .....	28
6. Literatura.....	29
Životopis.....	31



## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Silvia Sirovica**, naslova

### ZNAČAJ DODATKA HRANJIVA ZA KVASCE U PROIZVODNJI VINA GRAŠEVINA I PINOT CRNI

Pravilan tijek alkoholne fermentacije bitan je faktor u proizvodnji vina. Da bi alkoholna fermentacija imala pravilan tijek, posebnu pažnju treba posvetiti postupku rehidracije kvasca. Značajan utjecaj u pripremi ima dodatak hranjiva koji osnažuje stanice kvasca na samom početku. U istraživanju su korištena dva komercijalno dostupna hranjiva Go-Ferm Sterol Flash™ i Go-Ferm Protect Evolution™, koja su dodana u postupku rehidracije kvasaca. Primjena hranjiva Go-Ferm Sterol Flash™ rezultirala je većim brojem živih stanica kvasaca tijekom fermentacije, te u ukupnom broju stanica kvasaca neovisno od korištenog komercijalnog dostupnog soja kvasca.

**Ključne riječi:** hranjivo za kvasce, alkoholna fermentacija, 'Pinot crni', 'Graševina'

## Summary

Of the master's thesis - student **Silvia Sirovica**, entitled

### IMPORTANCE OF YEASTS NUTRIENT SUPPLEMENTS ADDITION IN THE PRODUCTION OF GRAŠEVINA AND PINOT NOIR WINES

The proper course of alcoholic fermentation is an important factor in wine production. To assure good fermentation kinetic, it is necessary to properly imply yeasts rehydration step. A significant influence in the preparation has a nutrient supplement that strengthens yeasts cells at the very beginning. In the research, we studied two commercially available nutrients Go-Ferm Sterol Flash™ and Go-Ferm Protect Evolution™, which were added in the process of yeast rehydration. Nutritious Go-Ferm Sterol Flash™ showed better results in the number of alive yeast cells during fermentation, and in the total number of yeast cells independent of the yeasts used.

**Keywords:** yeast nutrition , alcoholic fermentation, Pinot noir, Graševina

## 1.Uvod

Fermentacija je vrlo složen biokemijski proces. U svijetu oko sebe nailazimo na više različitih fermentacija, a u ovom radu pratila se alkoholna fermentacija. Primarna funkcija alkoholne fermentacije je pretvaranje šećera u alkohol etanol tijekom procesa vrenja uz pomoć kvasaca. Populacija kvasaca koji provodi alkoholnu fermentaciju porijeklom može biti prirodna tzv. epifitna mikroflora čije porijeklo je iz vinograda, s grožđa ili može biti selekcionirana, pri čemu se nalazi u obliku komercijalno dostupnih sojeva *Saccharomyces cerevisiae* ili ne-*Sacharomyces* vrsta. *Saccharomyces cerevisiae* je kvasac sa sposobnosti potpunog provođenja alkoholne fermentacije. Ima mogućnost prilagodbe teškim proizvodnim uvjetima kao što su visoki sadržaj šećera, niska temperatura, pH medija i dr., stoga i visoku fermentacijsku moć (Albergaria i sur., 2016).

Veliku važnost u pripremi kvasca koji će provoditi alkoholnu fermentaciju ima dodatak hranjiva. Hranjiva osnažuju kvasce za rast i razmnožavanje te im daje bolju mogućnost adaptacije. U istraživanju su korištena dva komercijalno dostupna hranjiva na tržištu Go-Ferm Sterol Flash™ i Go-Ferm Protect Evolution™ koji imaju za ulogu osnažiti, zaštititi i nahraniti kvasce. Odabir pravilnog kvasca i hranjiva uvelike je važan jer upravo o tome ovisi aromatski profil budućeg vina, početak te brzina fermentacije kao i sadržaj šećera u vinu po završetku fermentacije. Početni broj stanica kvasaca te njihova viabilnost tijekom razgradnje šećera važan su čimbenik definiranja kakvoće krajnjeg proizvoda, vina.

'Graševina' i 'Pinot crni' sorte su koje se uzgajaju većinom u kontinentalnom dijelu Hrvatske. U ovom radu prikazani su rezultati utjecaja dodatka hranjiva na brzinu i tijek alkoholne fermentacije moštova navedenih sorata uz primjenu po dva komercijalno dostupna soja za svaku sortu. Od komercijalnih kvasaca koji se nalaze na tržištu korišteni su Lalvin D254 i Enoferm Rp15 za 'Pinot crni', te Lalvin D47 i Lalvin QA23 za 'Graševinu'. Tijekom istraživanja praćen je broj stanica kvasaca, a u dobivenim vinima odrađena je osnovna kemijska analiza i aromatski profil vina 'Graševina' i 'Pinot crni'.

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj različitih komercijalno dostupnih sojeva kvasca uz dodatak dva dostupna hranjiva za kvasce na tijek alkoholne fermentacije moštova sorte 'Graševina' i 'Pinot crni', te osnovni kemijski sastav i aromatski profil dobivenih vina.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Sorta 'Graševina'

Graševina je bijela sorta grožđa, prva je po zastupljenosti u Hrvatskoj. Internacionalna je sorta kojoj podrijetlo nije sa sigurnošću utvrđeno. Navodno potječe iz Francuske, odakle je prenesena u Heidelberg, a u Hrvatsku je stigla negdje oko 19. st. U Hrvatskoj je najviše zastupljena na području Slavonije, gdje je našla optimalne uvijete za uzgoj.

Osim naziva 'Graševina' upotrebljavaju se još mnogi sinonimi za ovu sortu kao što su: 'Riesling Italico', 'Laški rizling', 'Grašica', 'Olaszrizling', te 'Welschriesling'.

#### 2.1.1. Karakteristike sorte 'Graševina'

Graševina dozrijeva u III. epohi u odnosu dozrijevanja Plemenke bijele. Sorta je otporna na niske temperature, kasnije kreće te izbjegava proljetne mrazove te ju je radi toga moguće saditi i na lošijim položajima. Prilagodljiva je, uspijeva na većini tla u Hrvatskoj. Kasno dozrijeva te je jedna od najkasnijih kontinentalnih sorata. Rodnost joj je redovita i dobra. Prinosi se kreću od 10 do 15 t/ha, rijetko kad podbaci sa prinosom. Srednje je osjetljiva na sivu plijesan, dok na ostale bolesti i štetnike nije pretjerano osjetljiva. Sadržaj šećera se kreće u granicama 15-20 °KMW u punoj zrelosti, a kiselost je relativno zadovoljavajuća (Maletić i sur., 2015).



Slika 2.1. Sorta 'Graševina' par dana prije berbe

## 2.2. Sorta 'Pinot crni'

'Pinot crni' je crna sorta podrijetlom iz Burgundije, francuske pokrajine. Najviše je rasprostranjen u Francuskoj, u regiji Cote d' Or. Većinom se uzgaja u područjima sa hladnijom klimom. Uzgaja se u svim kontinentalnim regijama Hrvatske i u svakoj daje na jedinstven način drugačije vino.

Osim naziva 'Pinot crni' upotrebljavaju se još i ovi nazivi: 'Pinot noir', 'Burgundac crni', 'Blauburgunder' i 'Spätburgunder'.

### 2.2.1. Karakteristike sorte 'Pinot crni'

Dozrijeva u I. epohi dozrijevanja u odnosu na dozrijevanje Plemenke bijele. Ranija je sorta, nije pogodna za izrazito toplu klimu. Izrazito je osjetljiva na proljetne mrazove i niske temperature. Grožđe je tanke kožice, a vino je svijetlije boje. Sorta je osjetljiva na bolesti, pa stoga treba stalnu njegu i nadzor. Vrlo je osjetljiv na *Botrytis*. Grozd je zbijen i mali, vrlo tanke kožice. Rodnost je mala, ali redovita i kreće se od 4-5 t/ha, dok klonovi postižu puno veću rodnost od 10 t/ha. Vina su vrhunske kakvoće, rubin crvene boje, skladna i mekana. Sadržaj alkohola je visok, kiseline male (Maletić i sur., 2015).



Slika 2.2. Sorta 'Pinot crni'



### 2.3. Položaj Zajčevka

Položaj Zajčevka smješten je nedaleko Plešivice, u Lokošin Dolu. Vinograd je zasađen u svibnju 2018. godine. Sorta 'Pinot crni' se nalazi na lijevoj polovici položaja, a sorta 'Graševina' od sredine prema desnom dijelu. Berba grožđa sorte 'Pinot crni' bila je 13.09.2022., a grožđa sorte 'Graševina' 25.09.2022.



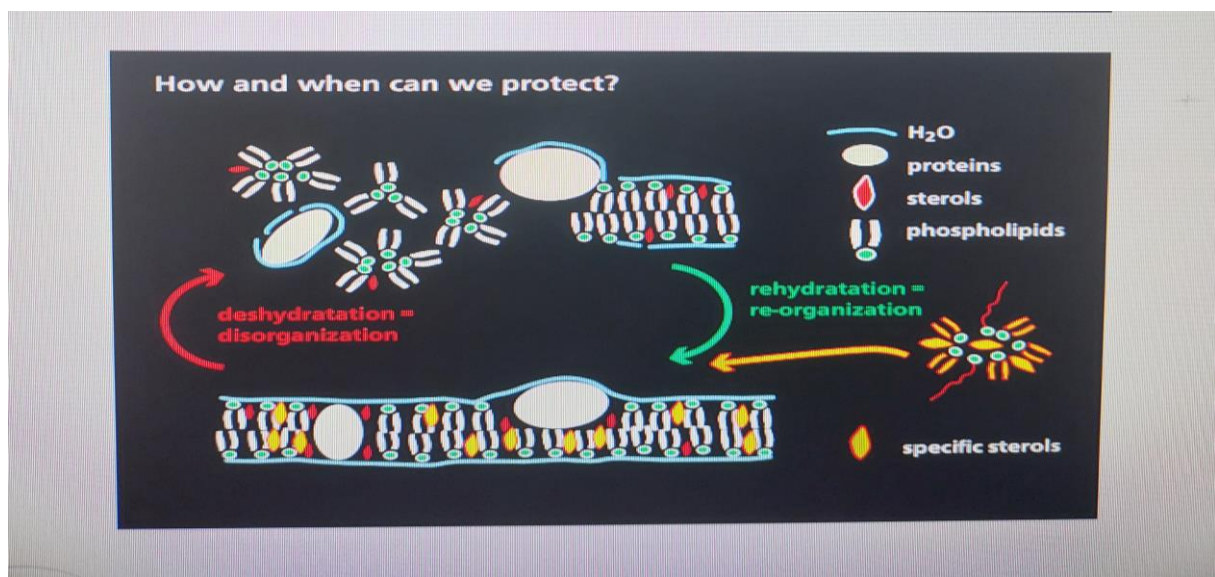
Slika 2.3. Položaj Zajčevka

## 2.4. Važnost postupka rehidracije kvasaca

Prilikom rehidracije kvasaca, aktivni suhi kvasac primit će vodu i poprimiti svoju originalnu formu. Tijekom proizvodnje komercijalno dostupnih kvasaca u postupka rehidracije stanica gubi 20-30% mikroelemenata koji se rasprše u vodi, a ne mogu se povratno vratiti u stanicu kvasca jer ih dijeli membrana. Citoplazmatska membrana dijeli unutrašnjost stanice kvasca od mošta, kasnije vina. Citoplazmatska membrana sadrži puteve za transport hranjivih tvari potrebnih za pravilno funkcioniranje stanice kvasca tijekom fermentacije.

Steroli kao sastavni dio hranjiva koje se dodaje tijekom aktivacije i rehidracije suhog kvasca učinkoviti su u zaštiti kvasaca te stimuliranju vrenja. Već prisutni polisaharidi, steroli i fosfolipidi koji se nalaze u neaktivnom suhom kvascu zauzimaju specifičan micelarni oblik koji omogućuje dodatnu ugradnju sterola u njihovu staničnu membranu.

Pravilna rehidratacija kvasca je najkritičnija točka u postupku pripreme aktivnog suhog kvasca. Među pojedinim odabranim *Saccharomyces* kvascima koji su dostupni u formi suhih kvasaca, uočene su značajne razlike u njihovoj kinetici i sposobnosti postizanja potpune fermentacije. Te razlike dolaze zbog potreba kvasca za kisikom i dušikom (Sablayrolles i sur., 2000).

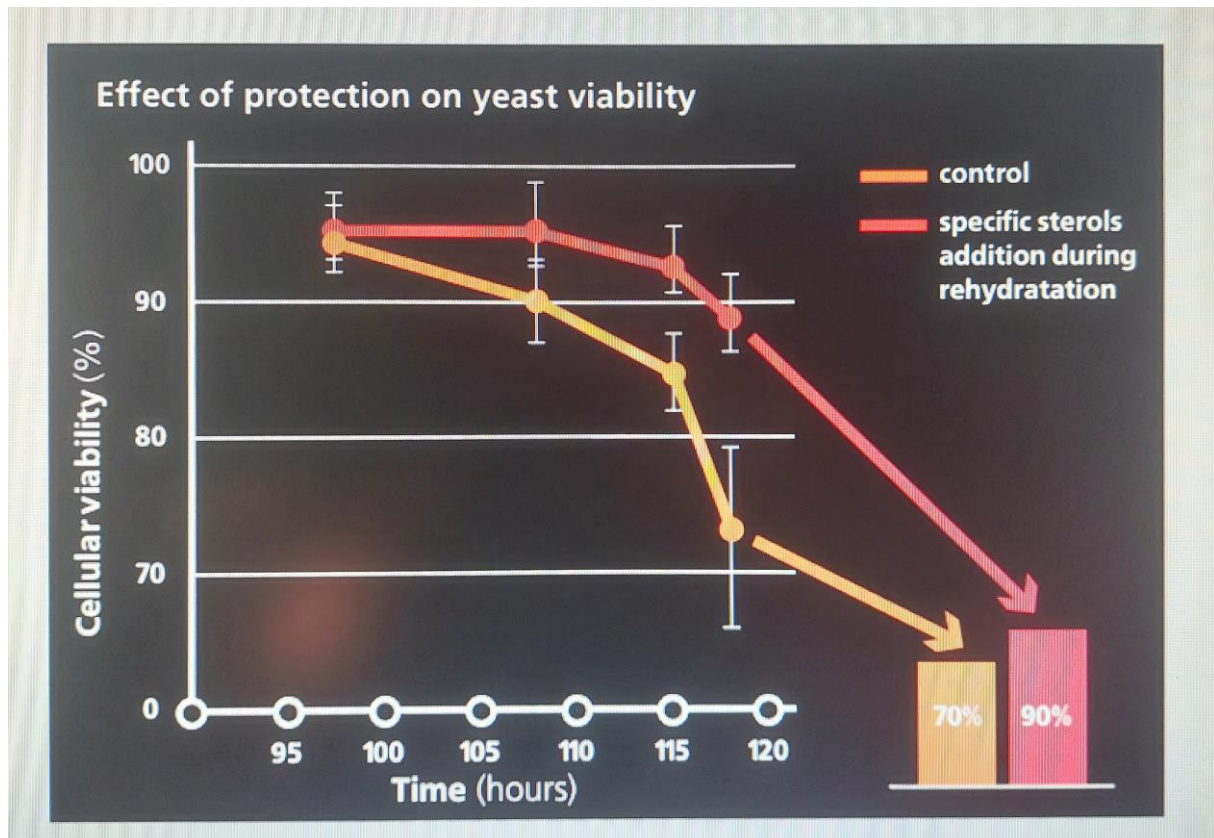


Slika 2.4. Prikaz djelovanja specifični sterol na membranu stanice kvasca  
(Izvor: [www.lallemandwine.com](http://www.lallemandwine.com))

Nekoliko istraživanja bavilo se praćenjem fermentacijske aktivnosti izoliranih sojeva kvasaca nakon različitih postupaka njihove rehidracije pri čemu su uočene velike razlike što je dodatno ukazalo na važnost pravilnog provođenja navedenog postupka pri čemu je najbolje u postupku rehidracije suhog kvasca slijediti upute samog proizvođača (Sablayrolles i sur., 2006). Dosadašnja istraživanja potvrdila su pozitivnu ulogu mikroelemenata i/ili sterola u postupku rehidracije suhog kvasca koji tada pokazuje veću viabilnost i vitalnost stanica (Soubeyrand i sur., 2005). Također je uočena i veća maksimalna gustoća stanica kvasaca i kraća ukupna



duljina fermentacije kada su korištene hranjivih tvari (mikroelementi i steroli) za rehidraciju i to se posebno u slučaju moštove od ledenih berbi, koji su puni šećera (Kontkanen i sur., 2004).



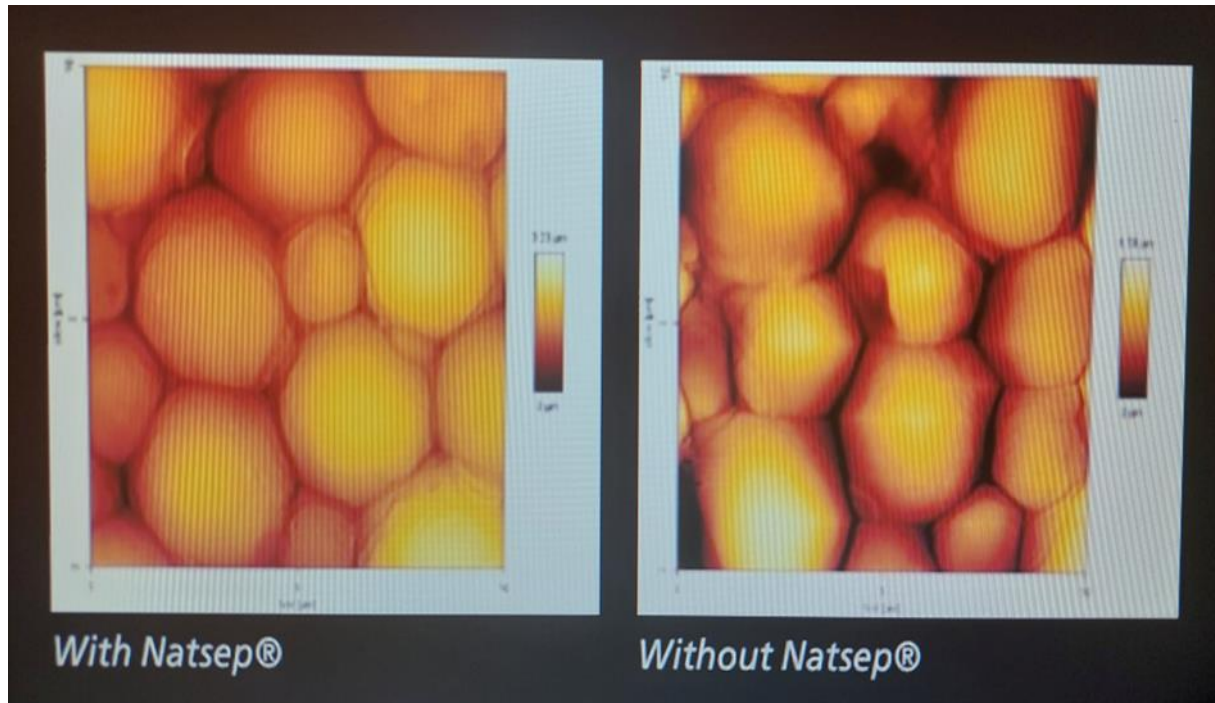
Slika 2.5. Usporedba vitalnosti stanica kvasca sa i bez dodanog specifičnog sterola (Izvor: [www.lallemandwine.com](http://www.lallemandwine.com))

Dodatak kvasca u mošt, nosi rizik propadanja kvasca ako nema mogućnost odgovarajuće prilagodbe. Upravo zaštita kvasca dodavanjem sterola i višestruko nezasićenih masnih kiselina povećava njihove šanse za preživljavanje. Tijekom rehidracijske faze, zaštićen kvasac, održava vrlo visoku vitalnost stanica. Membrana kvasca u konačnici može izdržati visoke koncentracije alkohola, sprečavajući ga da uđe u stanicu. Na taj način kvasac može do kraja razgraditi prisutan šećer u moštu. Zdrave stanice kvasca kada nisu pod stresom također ne proizvode prekomjerne količine nepoželjnih aromatskih spojeva te ne dolazi do naglašene sinteze hlapljivih kiselina.

Iz vode u kojoj se rehidrira, a u koju je dodano neko od dostupnih hranjiva kvasac uzima mikroelemente (vitamine i minerale), pri čemu se suhe stanice kvasca ponašaju poput spužve koja upija vodu, te se stanica poveća 1,5 puta. Taj proces omogućuje stanici lako reaktiviranje svog unutarnjeg metabolizma. Tijekom prilagodbe kvasca na mošt kada se u isti inokulira, kvasac doživi osmotski šok, od kojeg ga štiti membrana osnažena uz pomoć mikroelemenata, te se kvasac bolje aklimatizira. Rezultat toga je da kvasac proizvodi manje nepoželjnih hlapljivih



sumpornih spojeva koji mogu negativno utjecati na konačnu kvalitetu vina. Kroz razmnožavanje, kvasac obogaćen hranjivima, prenosi dio staničnog materijala slijedećim generacijama, s tim da se u svakoj slijedećoj postupno smanjuje debljina njihove stanične membrane.



Slika 2.6. Prikaz stanica kvasca sa dodatkom i bez dodatka hranjiva  
(Izvor: [www.lallemandwine.com](http://www.lallemandwine.com))

## 2.5. Kvasci

Kvasci su jednostanični mikroorganizmi tipičnoga kuglastog oblika, promjera 5 – 8  $\mu\text{m}$ . Budući da nemaju klorofil, ne mogu proizvoditi hranu fotosintezom, već ju pribavljaju adsorpcijom iz okoline. Razmnožavaju se najčešće nespolno – pupanjem. Danas je opisano i poznato više od tisuću vrsta kvasaca. *Saccharomyces cerevisiae* je nedvojbeno najvažnija vrsta kvasca u alkoholnoj fermentaciji. U različitim oblicima može funkcionirati kao vinski kvasac, pivski kvasac, destilatorski kvasac ili pekarski kvasac. Laboratorijski sojevi se intenzivno koriste u industriji i temeljnim studijama genetike, biokemije i molekularne biologije (Jackson, 2008.). Kvasci se u vinarstvu koriste za provođenje alkoholne fermentacije mošta, te za provođenje sekundarne fermentacije u proizvodnji pjenušavih vina. Kvasci roda *Saccharomyces* imaju značajnu ulogu i u formiranju sekundarnih produkata alkoholne fermentacije (Fleet 1993.), kao i na stvaranje sorte arome vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2000.; Howell i sur., 2004.).

### 2.5.1. *Saccharomyces* kvasci

*Saccharomyces cerevisiae* vrsta je kvasca koja je visoko specijalizirana za metaboliziranje medija s visokim udjelom šećera i malim količinama dušičnih spojeva (Suárez-Lepe i sur., 2012). Ova posebna karakteristika temelji se na „Crabtree efektu“, odnosno *Saccharomyces cerevisiae* čak i u aerobnim uvjetima ne koristi respiratorne mehanizme za metaboliziranje saharida i promicanje rasta biomase. Umjesto toga preko sinteze piruvata te njegovog prevođenja do acetaldehida proizvodi etanol i ugljikov dioksid. Proizvodnjom i akumulacijom etanola od strane *S. cerevisiae* kvasaca medij postaje toksičan za druge mikroorganizme i oni ugibaju. Na taj način *S. cerevisiae* eliminira konkurenciju za hranu (Parapouli i sur., 2020). S tehnološke strane proizvodnje vina, prednost se dala ovom kvascu zbog njegove mogućnosti preživljavanja u teškim uvjetima fermentacije kao što su nizak pH, manjak hranjivih sastojaka (dušičnih spojeva) u mediju, povećanje koncentracija kiselina, toksičnost etanola, dodavanje antimikrobnih sredstava te temperaturne razlike (Bauer i sur., 2000). Sljedeći niz kriterija za odabir *S. cerevisiae* kao najčešće starter kulture u industriji proizvodnje vina je razina proizvodnje metabolita koji tvore „fermentacijski buket“ i određuju složeni senzorni karakter proizvedenog vina (Eldarov i sur., 2016). *Saccharomyces cerevisiae* prvenstveno je odgovoran za stvaranje viših alkohola, estera i aldehida tijekom fermentacije (Cordente i sur., 2012).

## 3. Materijali i metode

### 3.1. Kvasci korišteni u istraživanju

Za proizvodnju vina 'Pinot crni' korišteni su kvasci Lalvin D 254 i Enoferm Rp 15, a za proizvodnju vina 'Graševina' Lalvin D 47 i Lalvin Q23, komercijalni kvasci proizvođača Lallemand.

#### 3.1.1. Lalvin D 254

*Saccharomyces cerevisiae*

Kvasac Lalvin D 254 izoliran je sa grožđa Shiraz 1987. godine u Montpellieru na Institutu za mikrobiologiju uz pomoć Dr. D. Delteila. Pogodan je za fermentacije moštova većih količina šećera i siromašnih na dušiku. Optimalna temperatura fermentacije je između 15 i 30°C. Ima kratku Lag fazu, vrlo snažan, jak soj kvasca, bez tendencije sinteze H<sub>2</sub>S spoja u fermentaciji. Ostvaruje vrlo brzi početak fermentacije, bez pjenjenja. Stvara do 14-16% vol alkohola. Proizvodi vrlo male koncentracije etil acetata i acetaldehida. Preporučuje se za crna vina kao što su 'Cabernet Sauvignon', 'Shiraz', 'Pinot crni', 'Gamay'.

U crnim vinima ICV D254 intenzivira voćni karakter - šljive, kupine, groždica, kao i mirisne komponente cedrovine, borovice, začina.

#### 3.1.2. Enoferm Rp 15

*Saccharomyces cerevisiae*

Kvasac Enoferm Rp 15 je selekcioniran u suradnji s vinarom Jeff Cohn-om u spontanoj fermentaciji grožđa 'Syraha' u pokrajini Rockpile. Kada je pravilno rehidriran sa Go-Ferm Protect hranjivom ima umjerenu potrebu za dušikom i oslobađa note mineralnosti i voćnosti (crveno voće). Preporučena temperatura fermentacije je od 20 do 30°C. Tolerancija na alkohol do 16% vol, kvasac oslobađa vrlo male količine hlapljive kiseline i SO<sub>2</sub>. Vrlo kratka Lag faza, osigurava dobru stabilizaciju boje. Preporučuje se za crna vina kao što su 'Syrah', 'Pinot crni', 'Zinfandel' i 'Merlot'.

### **3.1.3. Lalvin D 47**

*Saccharomyces cerevisiae*

Izoliran sa grožđa iz područja Cotes du Rhone od strane Dr.Delteila, voditelja Odjela za mikrobiologiju ICV, Montpellier. Selekcioniran je između 450 izoliranih sojeva u periodu od 1986 do 1990. godine. Preporučena temperatura fermentacije je od 10-35°C. Odlično sedimentira nakon fermentacije, ima vrlo kratku Lag fazu i izvanrednu dominaciju u moštu prepunom divljih kvasaca. Fermentira do 14% alkohola, pogodan je uz malolaktičnu fermentaciju i daje vinu naglašenu sortnu aromu i mirise, zahvaljujući  $\beta$ -glukozidaznoj aktivnosti. Proizvodi vrlo malo pjene, što omogućuje maksimalno korištenje kapaciteta.

### **3.1.4. Lalvin QA23**

*Saccharomyces cerevisiae*

Selekcioniran u Portugalu, na Sveučilištu Tras os Montes e Alto Douro (UTAD). Optimalna temperatura fermentacije je 15 do 32 °C, no podnosi i niske temperature od 10 °C . QA23 može fermentirati i moštove vrlo siromašne na dušiku, odnosno moštove koji su prošli centrifugu, vakum filter ili jače bistrenje. Koristi se za jednostavna bijela vina koje karakterizira svježina, voćnost i čistoća. Fermentira do 14 % alkohola. Ima izraženu kiler aktivnost što omogućava odličnu dominaciju nad spontanom mikroflorom koja bi mogla svojim nusproduktima bitno utjecati na kvalitetu vina u negativnom smislu. Kvasac odlično sedimentira ostavljajući bistro vino.

## **3.2. Hranjiva za kvasce**

Hranjiva za kvasce obogaćena su mikroelementima, sterolima i vitaminima. Hranjiva imaju puno pozitivnih karakteristika i svakako se preporučuju koristiti. Pomoću njih se kvascu daje ono najpotrebnije u optimalnim količinama za pokretanje fermentacije. Kasnije se dodaje hrana za kvasce koja može biti anorganska, organska ili kompleksna.

Oba inaktivna kvasca proizvedena su primjenom specijalne tehnologije nazvane NATSTEP (prirodna zaštita sterolima). NATSTEP™ patent je Lallemand korporacije u Europi i u Australiji. Tehnologija omogućuje normalnu kinetiku fermentacije bez problema u senzoricima vina. Glavna uloga je zaštita u vrijeme rehidracije kvasaca radi osnaživanja membrane, a samim time i smanjenja posljedica osmotskog šoka koji kvasac prolazi dodatkom u moštove s visokom koncentracijom šećera.

### **3.2.1. Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup>**

Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> nova je generacija 100% prirodne zaštite kvasaca u fermentaciji bijelih i ružičastih vina. Razvijena je radi novog i poboljšanog izvora sterola (kvalitativno i kvantitativno), ujedno je i hrana za kvasce, mikrohrana za početak fermentacije jer sadrži potrebne mikroelemente i vitamine. Neke od prednosti su svakako povećavanje viabilnosti i vitalnosti kvasaca radi ergosterola i izvora vitamina za kvasce. Povećana je također i otpornost na etanol. Kinetika same fermentacije je sigurnija i ujednačenija. Nema potrebe za prozračivanjem moštova tj. dodavanje kisika u fermentaciji vina može izostati jer inaktivni kvasac održava i optimalizira aktivnost kvasca tijekom fermentacije. Preporučena doza je 30 grama po hektolitru vina.

### **3.2.2. Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>**

Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> je novi prirodni zaštitnik kvasaca. Ubrzana je rehidracija kvasaca zbog velike koncentracije ergosterola. Omogućuje rehidraciju u hladnoj vodi (15°C) bez gubitka održivosti ili vitalnosti. Eliminira potrebu za aklimatizacijskim koracima, rehidrirani kvasac može se ubaciti u mošt ili sok nakon 15 minuta. Također potrebno je 50% manje vode od Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup>. Osigurava optimiziranu razinu mikronutrijenata (vitamina i minerala) i izuzetno visoku razinu čimbenika preživljavanja, uključujući sterole i nezasićene masne kiseline.

### 3.3. Provođenje pokusa

Jedan od najvažnijih koraka za pravilnu fermentaciju je priprema hranjiva i kvasaca koji će se koristiti u alkoholnoj fermentaciji. Iznimno je bitno paziti na temperaturu vode prilikom razmnožavanja kvasaca i njihove aktivacije, te na količinu vode. Istraživanje je provedeno 2022. godine sa sortama 'Graševina' i 'Pinot crni' s položaja Zajčevka, Plešivica. Grožđe je brano ručno u tehnološkoj zrelosti. Grožđe je pobrano u PVC sanduke kapaciteta 15 kg, a primarna prerada i vinifikacija obavljena je u vinariji Sirovica.

#### Sorta 'Graševina'

Nakon procesa muljanja i runjenja masulj je prešan, a dobiveni mošt taložen je 24 sata na temperaturi od 10°C. Uz to, proveden je postupak sulfitiranja uz dodatak Vinobrana. Izbistreni mošt odvojen je sa taloga te rastočen u 5 posuda zapremine 5 L. Koncentracija šećera u moštu određena je pomoću moštomjera, a izražena je u stupnjevima Oechsleovim (°Oe). Koncentracija šećera na početku fermentacije bila je 80 °Oe. U svaku posudu dodana je različita kombinacija komercijalnog soja kvasca i inaktivnog kvasca (Tablica 3.1.). Tijekom fermentacije praćena je razgradnja šećera pomoću moštomjera, svaki drugi dan.



Slika 3.1. Staklena posuda zapremnine 5L

Tablica 3.1. Prikaz različitih kombinacija kvasac i hranjiva u varijantama sorte 'Graševina'.

Varijanta	Graševina 1	Graševina 2	Graševina 3	Graševina 4	Graševina 5
Kvasac	QA23	QA23	D47	D47	D47
Hranjivo	Go-ferm Sterol Flash	Go-ferm Protect Evolution	Go-ferm Sterol Flash	Go-ferm Protect Evolution	/



Slika 3.2. Priprema kvasaca i hranjiva za sortu 'Graševinu'



## Sorta 'Pinot crni'

Nakon procesa muljanja i runjenja, masulj je stavljen u 4 inox tanka zapremnine 15 L te inokuliran s kombinacijom kvasac/hranjivo kako je prikazano u Tablici 3.2. Tankovi su bili napunjeni malo iznad trećine, te se prvih 6 dana u njima odvijala maceracija uz fermentaciju. Maceracija se odrađivala uz potiskivače, da bi se iz kožice bobice izvukla što je moguće veća boja. Nakon 6 dana masulj je isprešan. Koncentracija šećera određena je također pomoću moštomjera i iznosila je u trenutku berbe 90 °Oe.

Tablica 3.2. Kombinacije kvasaca i hranjiva za varijante sorte 'Pinot crni'

Varijanta	Pinot crni 1	Pinot crni 2	Pinot crni 3	Pinot crni 4
Kvasac	D 254	D 254	RP 15	RP15
Hranjivo	Go-ferm Sterol Flash	Go-ferm Protect Evolution	Go-ferm Sterol Flash	Go-ferm Protect Evolution



Slika 3.3. Priprema hranjiva za 'Pinot crni'



Slika 3.4. Priprema kvasaca za sortu 'Pinot crni'



### 3.4. Osnovna fizikalno-kemijska analiza

Koncentracija šećera u moštu određena je pomoću refraktometra, izrazili smo ju u Oechsleovim stupnjevima ( $^{\circ}\text{Oe}$ ). Kasnije je koncentracija šećera određivanja pomoću moštomjera i menzure. Titracijskom metodom po Rebeleinu određivan je reducirajući šećer u vinu (Zoecklin i sur. 2001).

Metodom neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi prema metodi O.I.V. (2012) određivana je ukupna kiselost (kao vinska, g/L). Također prema metodi O.I.V. (2012) određena je hlapljiva kiselost (kao octena, g/L) u vinu pomoću metode neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH i indikatorom fenoftaleinom s tim da je uzorak prethodno destiliran u struji vodene pare.

Metodom destilacije određen je alkohol u vinu, na osnovi specifične težine destilata pri  $20^{\circ}\text{C}$  prema vodi iste temperature. Pomoću tablica po Reichardu iz dobivenih vrijednosti očitani su odgovarajući volumni postoci alkohola.

Iz ostatka destilacije uz pomoć denzimetra određen je ukupni ekstrakt u vinu, a količina u g/L očitana je iz Reichardovih tablica prema metodi O.I.V. (2012). Kada se od vrijednosti ukupnog ekstrakta oduzmu količine reducirajućeg šećera dobije se ekstrakt bez šećera u vinu.

Sagorijevanjem suhe tvari određen je pepeo u vinu, a pH vrijednost je dobivena mjerenjem na Beckman Expandomatic SS-2 pH metru (Fullerton, Kalifornija, SAD).

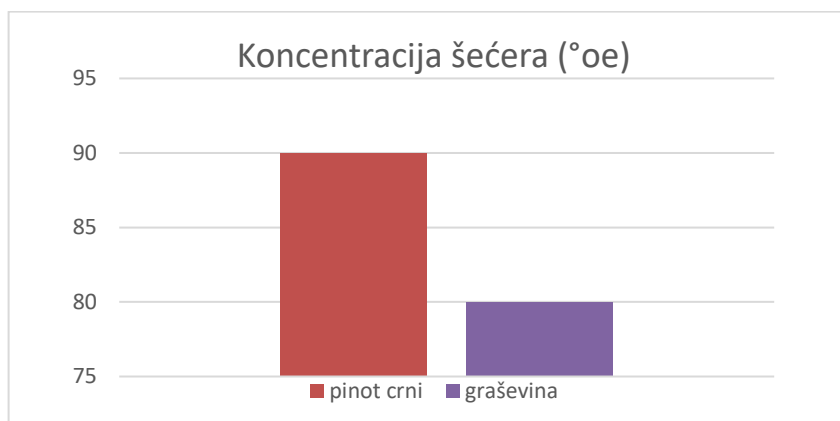
Praćenje broja živih stanica kvasca tijekom alkoholne fermentacije provedeno je na CellDrop automatiziranom brojaču stanica ( DeNovix Inc.) te pomoću hemicitometra prema Iland i sur. (2007).

### 3.5. Određivanje hlapljivih aromatskih spojeva

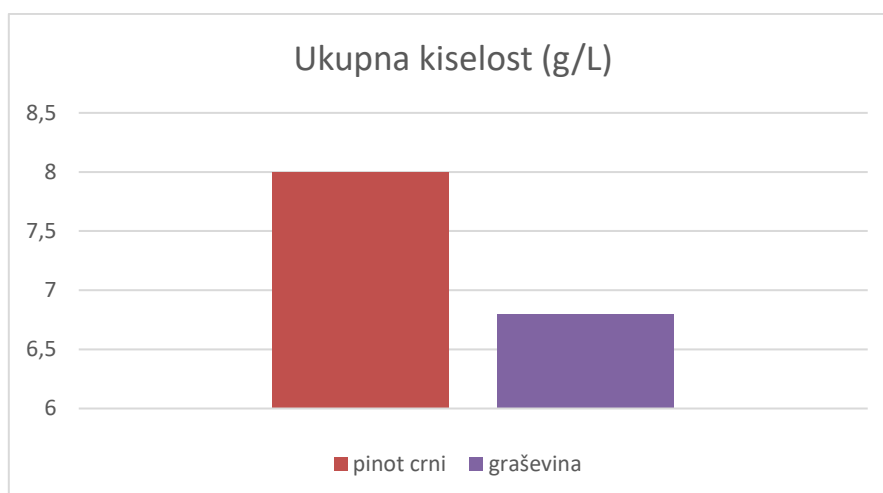
Analiza hlapljivih spojeva vina provedena je primjenom vezanog sustava plinske kromatografije (Thermo Scientific Trace 1300) -spektometar masa (Thermo Scientific ISQ 7000) uz prethodnu izolaciju analita mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi u izvedbi klina (engl. Solid Phase Microextraction Arrow) pomoću automatiziranog sustava za pripremu uzoraka. Kao čvrsta faza korišten je sustav CAR-PDMS-DVB. U posudicu za uzorke dodano je 5 mL vina i 2,5 g NaCl. Prije same adsorpcije na čvrstu fazu, uzorak je uravnotežen pri 55 °C u trajanju od 10 min. Adsorpcija analita provedena je pri 55 °C u trajanju od 60 min. Desorpcija je provedena u injektoru tekućinskog kromatografa pri 250 °C u trajanju od 7 min. Kromatografska analiza provedena je pomoću TR-Wax kolone (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) uz temperaturni program u rasponu temperatura od 40 do 210 °C. Snimanje spektara masa provedeno je praćenjem struje svih iona u rasponu od 20 do 500 m/z dok je energija elektrona bila 70 eV. Identifikacija je provedena pomoću usporedbe vremena zadržavanja, retencijskih indeksa te usporedbom spektara masa s onima u NIST 17 i Wiley 12 bazi podataka.

## 4. Rezultati i rasprava

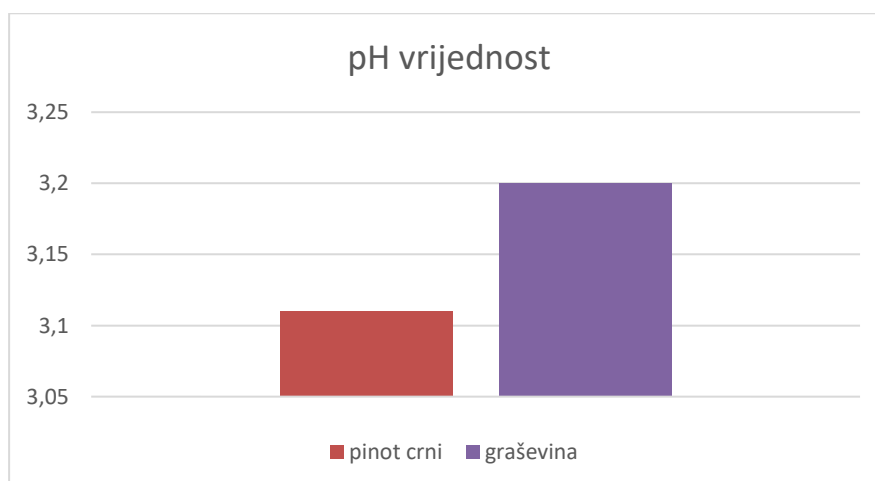
### 4.1. Osnovni kemijski sastav mošta



Grafikon 4.1. Koncentracija šećera (°Oe)



Grafikon 4.2. Ukupna kiselost (g/L)



Grafikon 4.3. pH vrijednost

## 4.2. Brojanje stanica kvasaca

Za brojanje stanica kvasca koristila se Neubauer-ova komora koja se sastoji od 9 velikih kvadrata svaki veličine  $1 \times 10^{-4}$  (central square), svaki od njih podijeljen je na 25 manjih, veličine  $4 \times 10^{-6}$  (intermediate square) od kojih je svaki podijeljen na njih 16, veličine  $2,5 \times 10^{-7}$  (small square). Za brojanje stanica koristila su se četiri intermedialna kvadrata na mreži hemocitometra. Za izračun broja stanica cells/mL (CFU) na početku fermentacije mošta sorte 'Graševina' korištena je formula prikazana na slici 4.1.

$$\text{cells/mL} = \frac{\text{total cells counted}}{\text{number of intermediate squares counted}} \times \frac{1}{\text{volume of an intermediate square (mL)}} \times \frac{\text{DF}}{1}$$

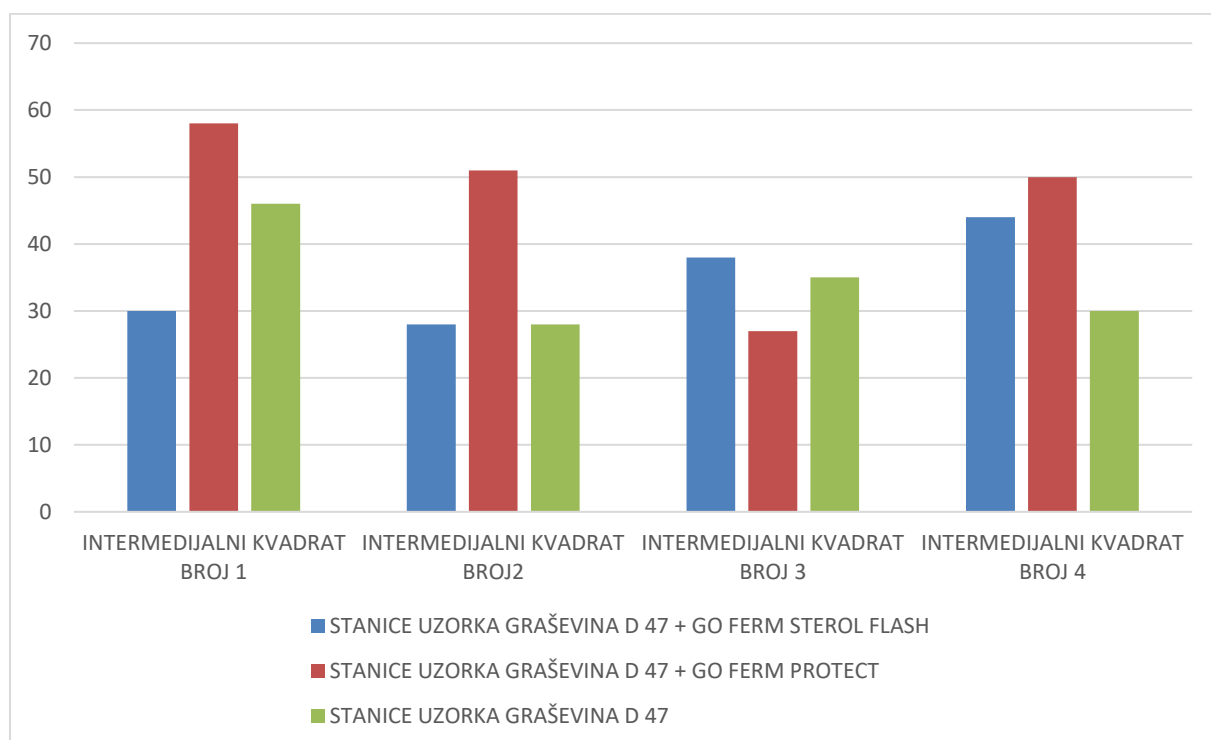
Slika 4.1. Formula za izračun stanica po mililitru uzorka

Total cells counted – ukupan broj izbrojanih stanica

Number of intermediate squares counted- broj intermedialnih kvadrata

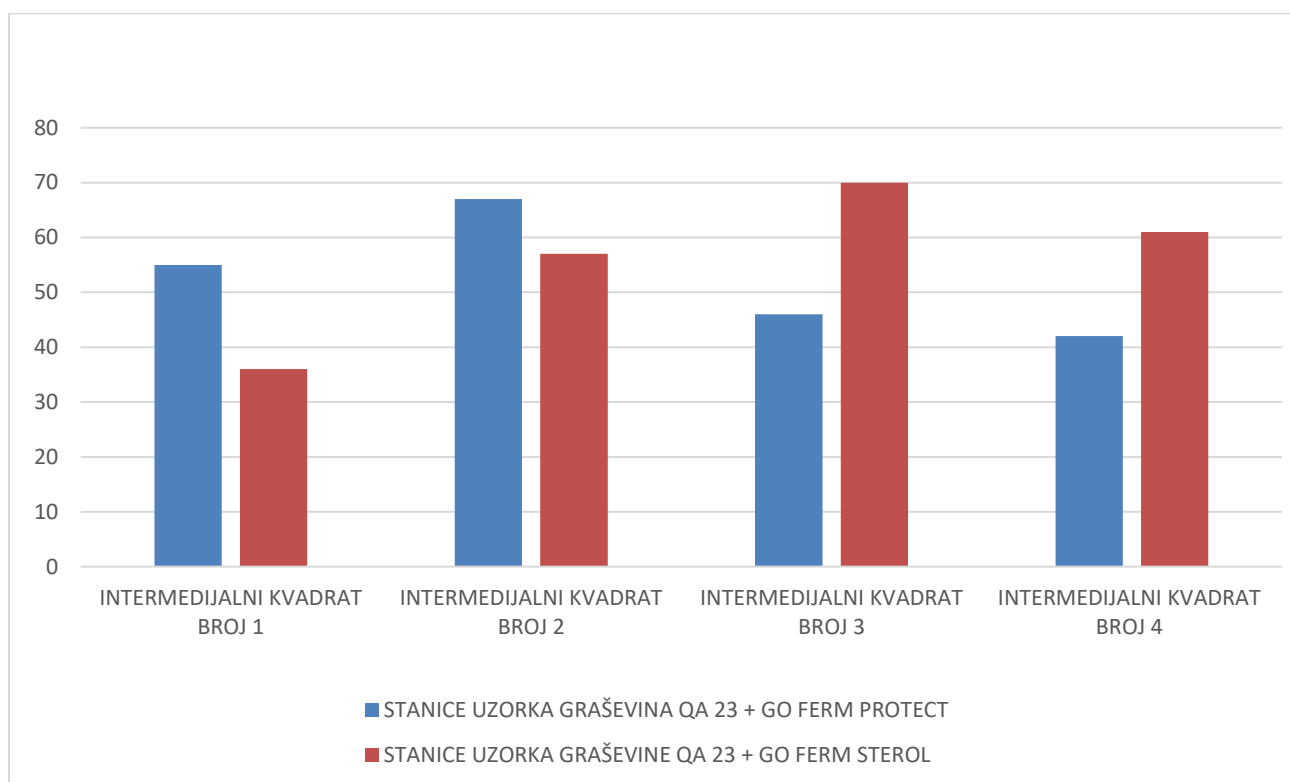
Volume of an intermediate square (mL)- volumen intermedialnih kvadrata

DF- faktor razrjeđenja



Grafikon 4.4. Broj stanica kvasca, usporedba Go-Ferm Sterol Flasha i Go-Ferm Protect Evolution i kvasca LalvinD 47, sorta 'Graševina'

Na grafikonu 4.4. prikaz je broja stanica kvasca tri dana nakon inokulacije mošta sorte 'Graševina' s kvascem Lalvin D47. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da varijanta u kojoj inaktivni kvasac u postupku rehidracije nije korišten je imala najmanji broj stanica kvasaca dok se je najvećim brojem nametnula varijanta u kojoj je korišten Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> inaktivni kvasac. Tako je  $8,75 \times 10^6$  stanica/mL bio izračun broja stanica u varijanti 'Graševina' D 47 + Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>, a  $11,62 \times 10^6$  stanica/mL kod varijante 'Graševina' D 47 + Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup>. Kontrolna varijanta samo sa dodatkom kvasca Lalvin D 47 bez dodatka hranjiva, pokazala je kroz Inter medijalne kvadrate različite vrijednosti, a izračun broja stanica iznosio je  $8,68 \times 10^6$ .



Grafikon 4.5. Broj stanica kvasca, usporedba Go-Ferm Sterol Flasha i Go-Ferm Protect Evolution i kvasca Lalvin QA23, sorta 'Graševina'

Na grafikonu 4.5. prikaza je broj stanica kvasca tri dana nakon inokulacije mošta sorte 'Graševina' s kvascem Lalvin QA23. Temeljem izračuna broja stanica veći broj stanica imala je varijanta 'Graševine' u kombinaciji kvasca Lalvin QA23 + Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> i to  $14,00 \times 10^6$  stanica/mL uzorka dok je izračun broja stanica 'Graševine' za varijantu QA23 + Go-Ferm Protect evolution<sup>TH</sup> iznosio  $13,12 \times 10^6$  stanica/mL.

Brojanje stanica kvasca u varijantama 'Pinot crni' i 'Graševina' provedeno je i primjenom automatiziranog brojača stanica kojim je omogućeno i definiranje vijabilnosti stanica kvasaca. Prema rezultatima prikazanim u tablici 4.1. vidljiva je razlika u broju stanica između istraživanih sorata pri čemu je u svim varijantama 'Graševina' broj stanica bio vidljivo veći u odnosu na 'Pinot crni'. Razlog tome je datum berbe tj. u slučaju 'Graševine' fermentacija je tek započela dok je u slučaju 'Pinot crni' ona već trajala skoro tjedan dana. Neovisno od sorte varijante u kojima je korišten Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> imale su uglavnom veću vijabilnost stanica. Usporedbom korištenih komercijalnih sojeva kvasca veći broj stanica utvrđen je primjenom kvasca Lalvin QA23.

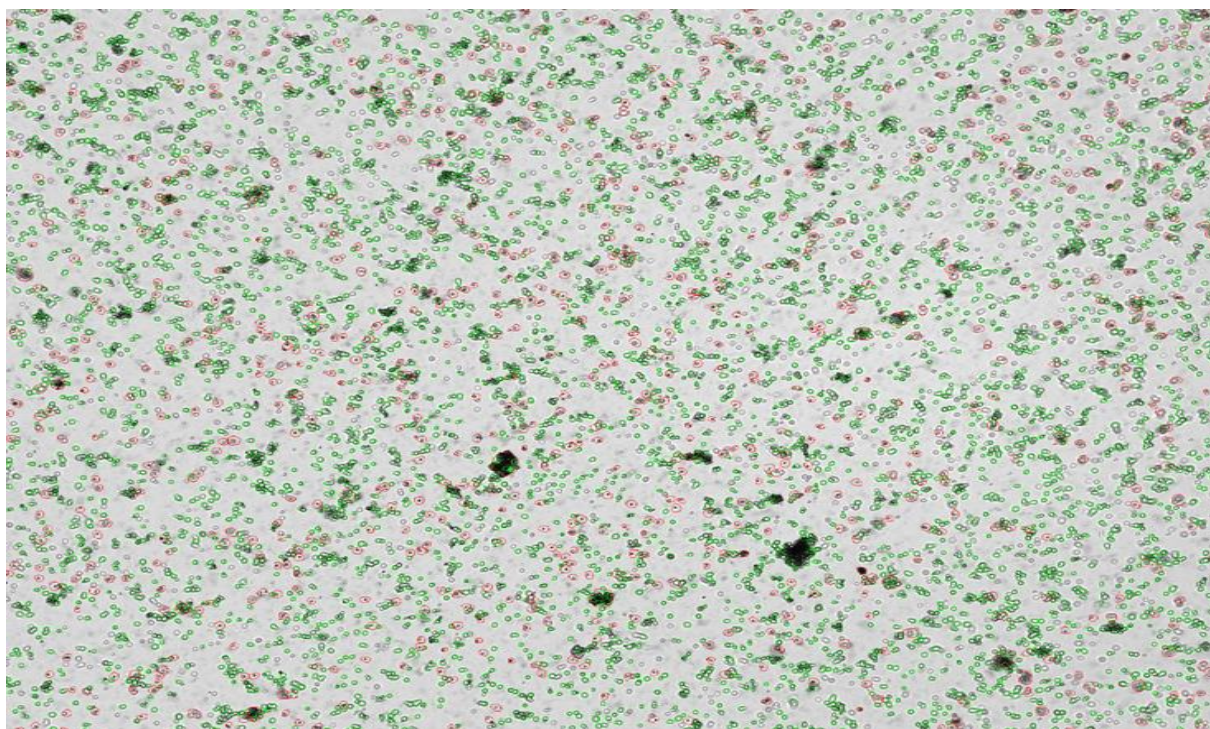
Tablica 4.1. Rezultati CellDrop automatiziranog brojača stanica ( DeNovix Inc.) varijanata 'Pinot crni' i 'Graševina' 29.09.2022.

Varijanta	Ukupan broj stanica	Broj živih stanica	Broj mrtvih stanica	Vijabilnost (%)	Stanice/mL
Pinot crni RP15+Go-Ferm Protect	641	218	423	33	3,8x10 <sup>6</sup>
Pinot crni RP15+Go-Ferm Sterol Flash	728	328	400	44	4,3 x10 <sup>6</sup>
Pinot crni D254+ Go-Ferm Protect	643	210	433	32	3,78x10 <sup>6</sup>
Pinot crni D254+ Go-Ferm Sterol Flash	522	184	388	35	3,07x10 <sup>6</sup>
Graševina QA23+ Go-Ferm Protect	3527	2960	561	84	2,07x10 <sup>7</sup>
Graševina QA23+ Go-Ferm Sterol Flash	4845	4083	762	84	2,85x10 <sup>7</sup>
Graševina D47+ Go-Ferm Protect	2272	1557	715	68	1,34x10 <sup>7</sup>
Graševina D47+ Go-Ferm Sterol Flash	4870	4100	700	84	2,86x10 <sup>7</sup>

Analiza broja stanica kvasaca obavljena je i tjedna dana kasnije tj. 05.10.2022. godine a rezultati su prikazani u tablici 4.2. Vidimo da se je broj stanica kvasaca značajno smanjio što je u skladu s očekivanjima, tj. alkoholna fermentacija je kod varijante 'Pinot crni' ušla u svoju završnu fazu, a kod varijante 'Graševina' je trajala već desetak dana. I u ovom slučaju ponovno je veća varijabilnost utvrđena u varijantama gdje je korišten Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>.

Tablica 4.2. Rezultati CellDrop automatiziranog brojača stanica ( DeNovix Inc.) varijanta 'Pinot crni' i 'Graševina' 05.10.2022.

Varijanta	Ukupan broj stanica	Broj živih stanica	Broj mrtvih stanica	Vijabilnost (%)	Stanice/mL
Pinot crni RP15+ Go-Ferm Protect	141	28	113	20	$1,05 \times 10^5$
Pinot crni RP15+ Go-Ferm Sterol Flash	121	25	96	21	$8,8 \times 10^4$
Pinot crni D254+ Go-Ferm Protect	140	31	99	22	$1,02 \times 10^5$
Pinot crni D254+ Go-Ferm Sterol Flash	152	42	110	27	$1,1 \times 10^5$
Graševina QA23+ Go-Ferm Protect	461	168	293	36	$2,7 \times 10^6$
Graševina QA23+ Go-Ferm Sterol Flash	726	326	400	44	$4,2 \times 10^6$
Graševina D47+ Go-Ferm Protect	534	209	325	39	$3,13 \times 10^6$
Graševina D47+ Go-Ferm Sterol Flash	545	212	333	38	$3,20 \times 10^6$



Slika 4.2. Varijanta 'Graševina' QA23 + Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>

### 4.3. Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina

Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina odrađena je u laboratoriju Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta. Od parametara određena je koncentracija alkohola (%vol), ukupna kiselost kao vinska (g/L), hlapljiva kiselost kao octena (g/L), ukupni ekstrakt (g/L), reducirajući šećeri (g/L), ekstrakt bez šećera (g/L), pH te pepeo (g/L).

Tablica 4.3. Osnovna analiza vina 'Graševina'

	'Graševina' QA23+sterol	'Graševina' QA23+protect	'Graševina' D47+sterol	'Graševina' D47+protect
Alkohol (vol%)	11,4	11,5	11,4	11,9
Ekstrakt ukupni g/L	16,6	17,2	16,7	17,5
Šećer reducirajući g/L	1,5	2,5	1,7	3,2
Ekstrakt bez šećera g/L	16,1	15,7	16,0	15,3
Ukupna kiselost (kao vinska) g/L	5,2	5,0	5,0	5,0
Hlapljiva kiselost (kao octena) g/L	0,27	0,29	0,31	0,50
pH	3,08	3,15	3,11	3,21
Pepeo g/L	1,36	1,44	1,48	1,41

Iz tablice 4.3. vidljivo je da se alkoholi kreću od 11,4 do 11,9 % vol. Varijante 'Graševina' u kojima je korišteno hranjivo Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> imale su jednak alkohol i to 11,4% vol. Kod primjene hranjiva Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> utvrđene su nešto veće količine ukupnog ekstrakta te veća količina reducirajućeg šećera. Hlapljiva kiselost najmanju je vrijednost imala u varijanti 'Graševina' QA23 + Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>, dok je najveća vrijednost od 0,50 g/L utvrđena u varijanti 'Graševina' kvasac D47 + hranjivo Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup>. pH vrijednost varirala je u rasponu od 3,08 do 3,21. Najmanja vrijednost pepela iznosila je 1,36 g/L i to prvoj varijanti, a najveća sa iznosom od 1,48 g/L nalazila se u trećoj varijanti 'Graševina' D 47 + Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>.



Tablica 4.4. Osnovna analiza vina 'Pinot crni'

	'Pinot crni' D254 + sterol	'Pinot crni' D254+protect	'Pinot crni' RP15+sterol	'Pinot crni' RP15+protect
Alkohol (vol%)	11,3	11,7	11,9	11,7
Ekstrakt ukupni g/L	22,2	22,4	22,4	22,7
Šećer reducirajući g/L	2,9	2,4	2,1	2,5
Ekstrakt bez šećera g/L	20,3	21,0	21,3	21,2
Ukupna kiselost (kao vinska) g/L	7,4	7,5	7,4	7,6
Hlapljiva kiselost (kao octena) g/L	0,46	0,41	0,40	0,43
pH	2,95	2,93	2,95	2,96
Pepeo g/L	1,40	1,48	1,60	1,57

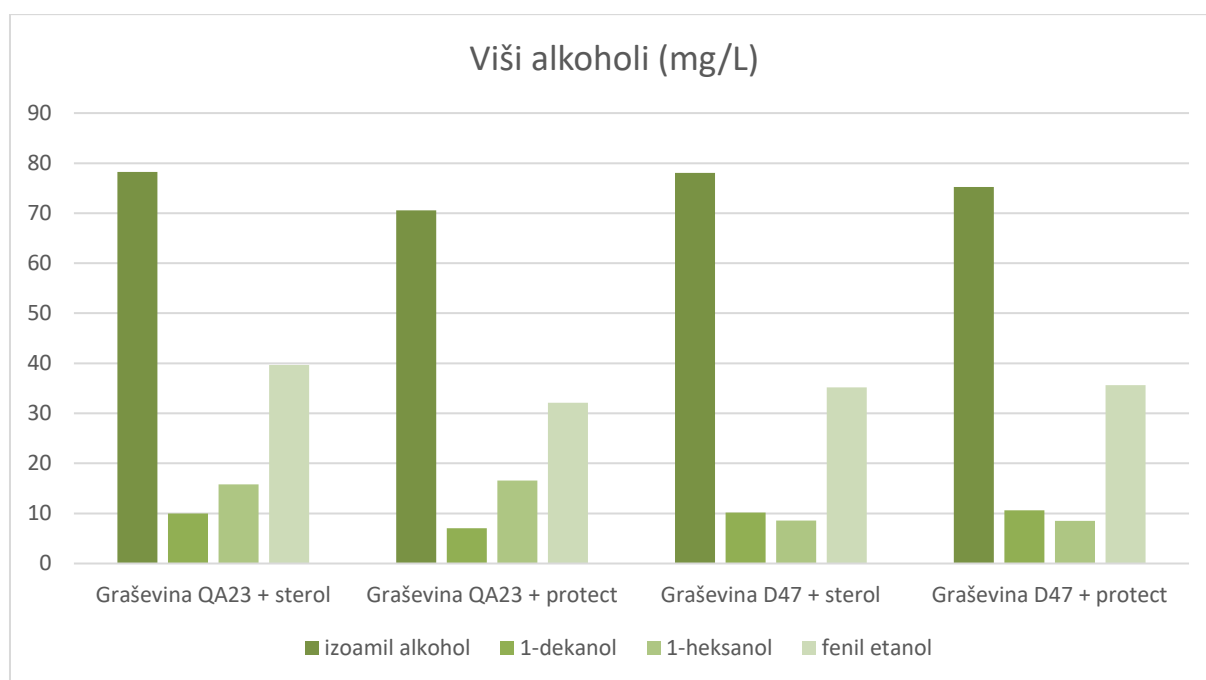
Iz tablice 4.4. vidimo da su se vrijednosti alkohola kretale od 11,3 do 11,9 vol%. Najveću količinu alkohola imala je varijanta 'Pinot crni' sa kvascem Enoferm Rp15 i hranjivom Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>. Ukupni ekstrakt je također bio sličan u svim varijantama, te se kretao u rasponu od 22,2 do 22,7 g/L. Koncentracija reducirajućeg šećera bila je slična u svim varijantama i kretala se u rasponu od 2,1 g/L do 2,9 g/L. Ukupna kiselost je također bila približno jednaka u svim varijantama, u rasponu od 7,4 do 7,6 g/L. Nešto veća razlika utvrđena je u sadržaju pepela pri čemu su varijante u kojima je korišten kvasac Enoferm Rp15 neovisno o korištenom hranjivu bile bogatije.

## 4.4. Aromatski profil vina

Najvažniji predstavnici arome vina su viši alkoholi, esteri, aldehidi i terpeni. Kroz slijedeće grafikone pokazani su rezultati zastupljenosti pojedinih predstavnika aroma u ispitivanim varijantama vina 'Graševina' i 'Pinot crni'.

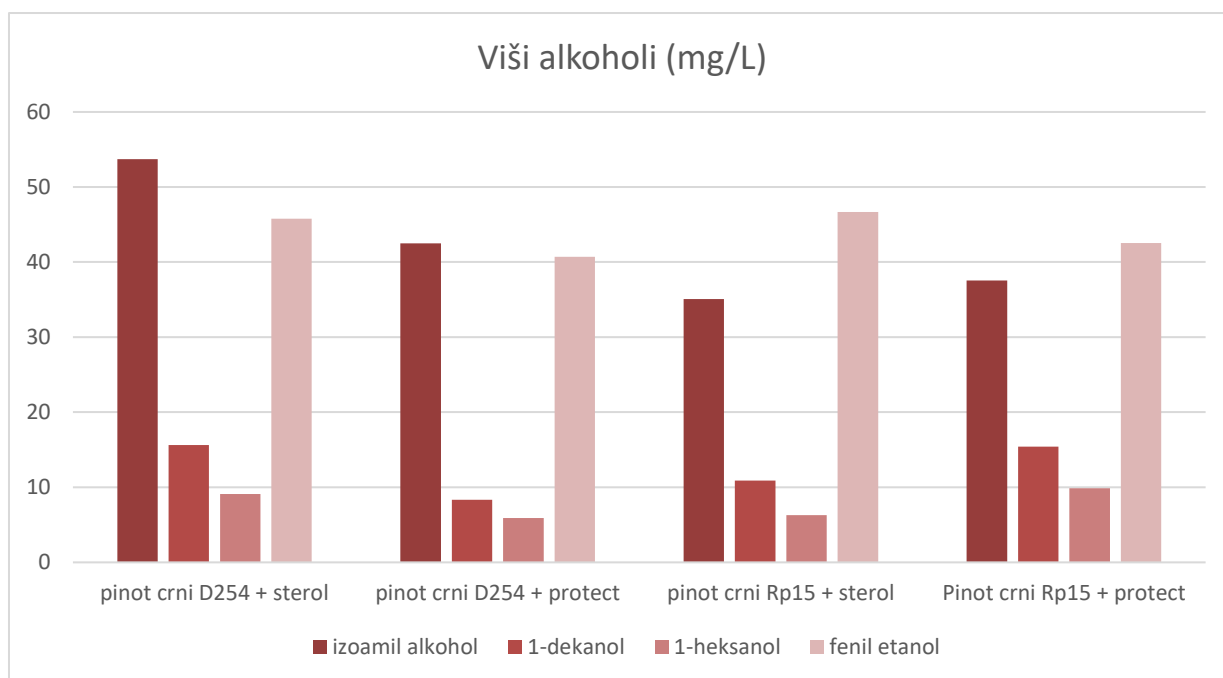
### 4.4.1. Viši alkoholi

Naziv viši alkoholi nose svi alkoholi koji sadrže dva ili više ugljikova atoma. Većina viših alkohola u vinima nastaje kao produkt alkoholne fermentacije. Sintezi viših alkohola tijekom fermentacije pogoduje prisutnost kisika, viša temperatura i prisutnost otopljenog materijala u moštu. Viši alkoholi mogu biti prisutni u zdravom grožđu, što je najčešće slučaj s heksanolima koji daju nekim vinima miris po travi.



Grafikon 4.3. Viši alkoholi u varijantama 'Graševina'

Najzastupljeniji od viših alkohola bio je izoamilni alkohol, te nakon njega fenil etanol. Najviše koncentracije su utvrđene u varijanti 'Graševina' QA23+Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> sa koncentracijom od 78,23 mg/L izoamilnog alkohola i 39,65 mg/L fenil etanola. Najmanje koncentracije imala je varijanta s kvascem QA23 uz hranjivo Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> i to sa 70,53 mg/L izoamilnog alkohola i 32,12 mg/L fenil etanola. Općenito veće koncentracije utvrđene su u varijanti gdje je korišten Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>.

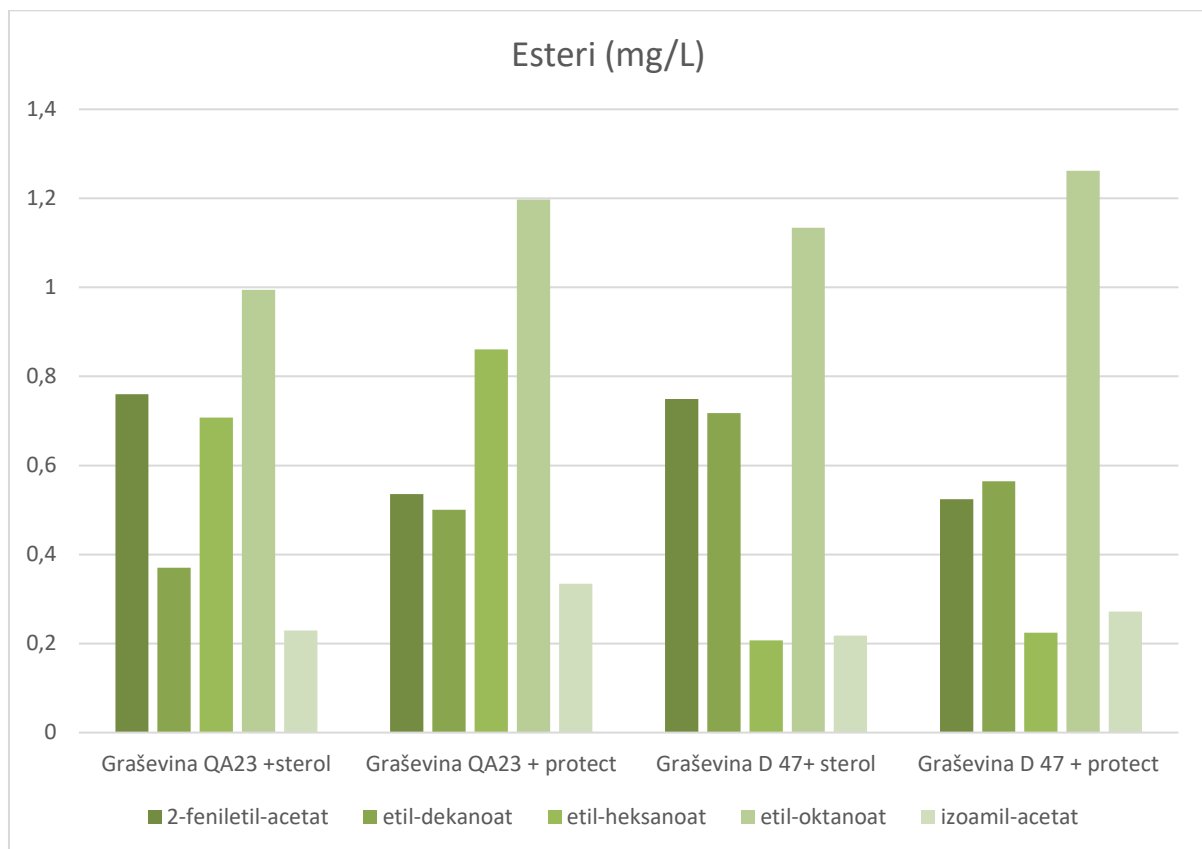


Grafikon 4.4. Viši alkoholi u varijantama 'Pinot crni'

Najzastupljeniji viši alkohol u varijanti 'Pinot crni' gdje je fermentaciju provodio kvasac Lalvin D254 bio je izoamilni alkohol dok je kod varijante gdje je korišten Enoferm R15 se kao najzastupljeniji nametnuo fenil etanol. Što se tiče utjecaja korištenog hranjiva nešto više koncentracije navedenih spojeva utvrđene su kod varijanti sa Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>.

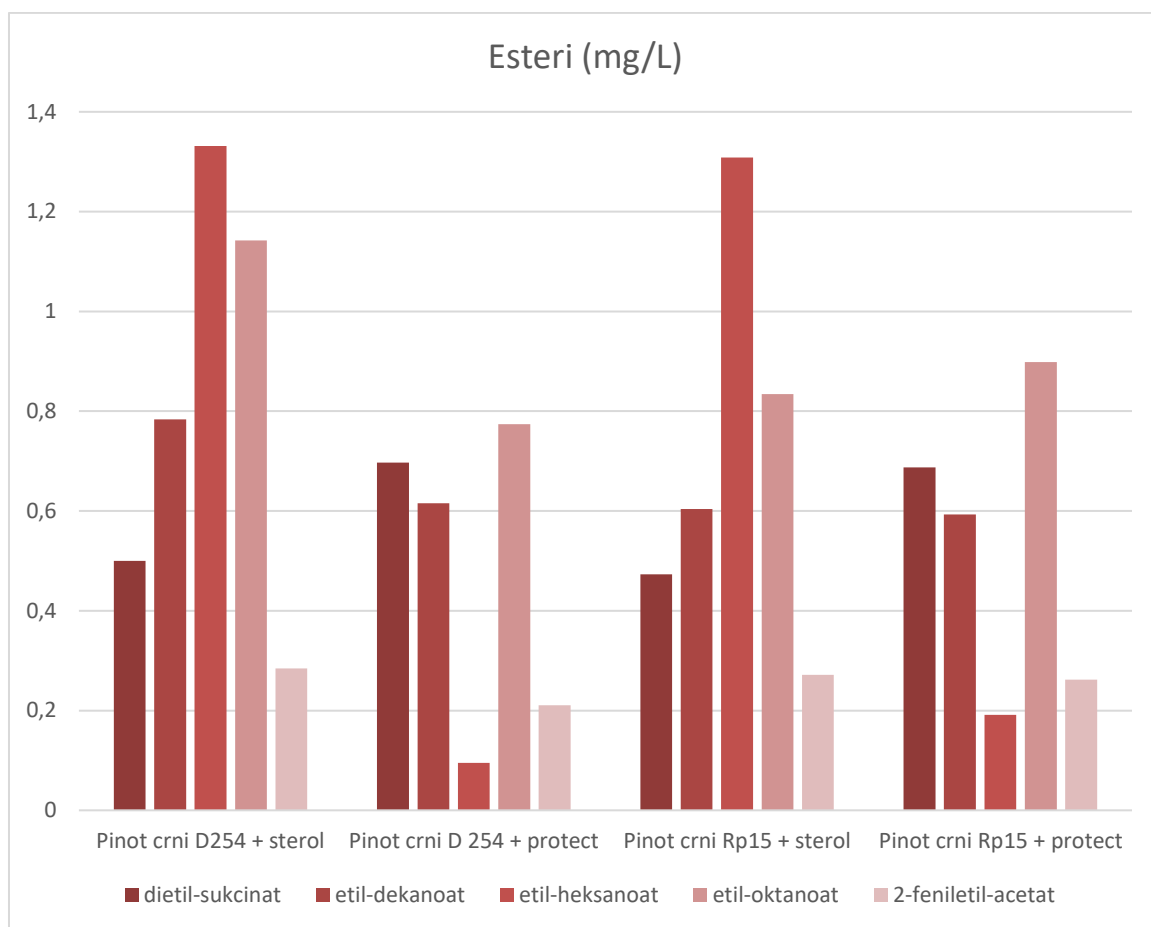
#### 4.4.2. Esteri

Esteri su produkti kondenzacije karboksilne skupine organskih kiselina i hidroksilne skupine alkohola. U vinima je identificirano više od 160 estera, no samo nekolicina ih je prisutna u koncentracijama koje prelaze granice osjetnog zapažanja. Najzastupljenije su dvije skupine estera: acetatni esteri koji nastaju iz octene kiseline i viših alkohola, i etilni esteri koji nastaju iz etanola i viših masnih kiselina, ili nehlapljivih organskih kiselina. Acetatni esteri odlikuju se izrazito voćnim mirisom te se smatra da upravo oni daju specifičan miris vinima. Na slijedećim grafikonima prikazane su koncentracije najzastupljenijih estera.



Grafikon 4.5. Koncentracija pojedinih estera u varijantama 'Graševina'

Obzirom na korištene komercijalne kvasce uočena je razlika u sintezi pojedinih estera pri čemu su se vina dobivena primjenom kvasca Lalvin QA23+ Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> izdvojila nešto većim sadržajem 2-feniletil-acetata dok je kod varijante s istim kvascem ali u kombinaciji sa Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> utvrđena najveća koncentracija etil heksanoata. Varijanta s kombinacijom kvasca Lalvin D47+ Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> bila bogatija etil oktanoatom ali i najsiromašnija etil heksanoatom.



Grafikon 4.6. Koncentracije estera u varijantama 'Pinot crni'

Na grafikonu 4.6. vidljivo je da je veća koncentracija dietil-sukcinata bila u varijantama gdje je kao hranjivo korišten Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup> dok su se varijante u kojima je korišteno hranjivo Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> izdvojile većim sadržajem etil heksanoata. Iz prikazanih rezultata utvrđena je i razlika u koncentracijama pojedinačnih estera obzirom na korišteni soj kvasca pri čemu se kvasca Lalvin D254 izdvojio nešto većom sintezom.

## 5. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog istraživanja utjecaja dvaju hranjiva (Go-Ferm Protect Evolution<sup>TH</sup>, Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>) u kombinaciji sa različitim komercijalno dostupnim sojevima kvasca (QA23, Rp15, D254, D47) na broj stanica kvasca i aromatski profil vina možemo zaključiti sljedeće:

1. Najveći broj stanica kao i njihova vijabilnost u varijanti 'Graševina' na dan 29.09.2022., imao je kvasac Lalvin QA23 + hranjivo Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>, a taj trend potvrđen je i u uzorcima analiziranim tjedan dana kasnije.
2. Najveća viabilnost stanica kvasaca u varijanti 'Pinot crni' utvrđena je kod varijante gdje je korišten kvasac Lalvin D 254 uz hranjivo Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup>.
3. Veću koncentraciju viših alkohola u varijantama 'Graševina' i 'Pinot crni' utvrđene su u varijantama u kojima je korišteno Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> hranjivo neovisno o korištenom soju kvasca
4. Najvećom koncentracijom estera izdvojila se kod varijante 'Pinot crni' kombinacija kvasca Lalvin D254 uz hranjivo Go-Ferm Sterol Flash<sup>TH</sup> dok kod varijante 'Graševina' razlike nisu bile prisutne.

Temeljem svega navedenog možemo zaključiti da pravilni odabir hranjiva te soja kvasca može značajno utjecati na tijek alkoholne fermentacije, a samim time i aromatski profil krajnjeg proizvoda, vina.

## LITERATURA:

1. Albergaria H., Arneborg N. (2016). Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions. *Applied microbiology and biotechnology*. 100(5), 2035-2046.
2. Binati R. L., Junior W. J. L., Luzzini G., Slaghenaufi D., Ugliano M., Torriani S. (2020). Contribution of non-*Saccharomyces* yeasts to wine volatile and sensory diversity: A study on *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia* spp. and *Starmerella bacillaris* strains isolated in Italy. *International journal of food microbiology*. 318, 108470.
3. Cordente, A. G., Curtin, C. D., Varela, C., and Pretorius, I. S. (2012). Flavor-active wine yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 96, 601-618.
4. Eldarov, M. A., Kishkovskaia, S. A., Tanaschuk, T. N., Mardanov, A. V. (2016). Genomics and biochemistry of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. *Biochemistry – Moscow*. 81(13), 1650–1668.
5. Fleet, G.H., Heard, G.M. (1993). Yeasts – growth during fermentation, *Wine Microbiology and Biotechnology*, Harwood Academic Publishers. 27-54.
6. Iland, P., Grbin, P., Grinbergs, M., Schmidtke L., Soden, A. (2007). *Microbiological analysis of grapes and wines: techniques and concepts*, Patrick Iland Wine Promotions Pty Ltd
7. Jackson R.S. (2014). *Wine Science: Principles and Applications*, 3rd edition, Elsevier, USA
8. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I., (2008). *Vinova loza, Školska knjiga*
9. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Preiner, D., Zdunić, G., Bubola, M., Žulj Mihaljević, M. (2015). *Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze*. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
10. Parapouli M, Vasileiadis A, Afendra AS, Hatziloukas E (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiol* 6(1):1-31
11. Reed, G. I Peppler, H.J. (1973). *Yeast Technology*, The AVI Publishing Company, Inc., Connecticut.
12. Ribéreau-Gayon P., Dubordieu D., Donèche B., Lonvaud, A. (2000). *Handbook of Enology, Volume I*, John Wiley & Sons, New York
13. Sablayrolles, J.M., Julien, A., Roustan, J.L, Dulau, L. (2000). Comparison of nitrogen and oxygen demands of enological yeasts: technological consequences, *Am. J. Enol. Vitic.*, 51, 200-222.

14. Sablayrolles, J.M., Soubeyrand V., Julien, A. (2006). Rehydration protocols for active dry wine yeasts and the search for early indicators of yeast activity, *Am. J. Enol. Vitic.*, 57, 474-480.
15. Soubeyrand, V., Salmon, J., Luparia, V., Williams, P., Doco, T., Vernhet, H., Julien, A. (2005). Formation of micella containing solubilized sterols during rehidration of active dry yeasts improves their fermenting capacity, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8025-8032.
16. Suárez-Lepe, J.A. and Morata, A. (2012). New Trends in Yeast Selection for Winemaking. *Trends in Food Science and Technology*, 23, 39-50.
17. Swiegers, J.H., Pretorius, I. S. (2005). Yeast modulation of wine flavour. *Adv. Appl. Microbiol.* 57, 131-175.

**Popis korištenih izvora – poveznica:**

<http://www.pavin.hr/proizvod/lalvin-icv-d254/>  
<http://www.pavin.hr/proizvod/enoferm-rp15/>  
<http://www.pavin.hr/proizvod/lalvin-qa23/>  
<http://www.pavin.hr/proizvod/lalvin-icv-d47/>  
<http://www.vinopedia.hr/>  
<https://en.wikipedia.org/>  
<https://lallemandwines.com>



## **Životopis**

Silvia Sirovica, rođena je u Zagrebu 23.07.1999. U Jastrebarskom je pohađala Osnovnu školu Ljube Babić, te gimnaziju u Srednjoj školi Jastrebarsko. Svoje srednjoškolsko obrazovanje završava 2018. godine i upisuje Agronomski fakultet na Sveučilištu u Zagrebu. 2021. stječe akademski naziv sveučilišne prvostupnice hortikulture te iste godine upisuje diplomski studij Hortikulture, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo na Agronomskom fakultetu u Zagrebu.