

USPOREDBA SACCHAROMYCES I NE - SACCHAROMYCES KVASACA U VINU MERLOT (Vitis vinifera L.)

Sušanj, Igor

Master's thesis / Specijalistički diplomski stručni

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **The
Polytechnic of Rijeka / Veleučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:125:066778>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[Polytechnic of Rijeka Digital Repository - DR PolyRi](#)



VELEUČILIŠTE U RIJECI

Igor Sušanj

USPOREDBA SACCHAROMYCES I NE - SACCHAROMYCES

KVASACA U VINU MERLOT (*Vitis vinifera L.*)

(specijalistički završni rad)

Rijeka, 2020.

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Poljoprivredni odjel

Specijalistički diplomski stručni studij vinarstva

USPOREDBA SACCHAROMYCES I NE - SACCHAROMYCES KVASACA U VINU MERLOT (*Vitis vinifera L.*)

(specijalistički završni rad)

MENTOR

Kristijan Damijanić mag. agr.

STUDENT

Igor Sušanj

MBS: 2421200004/18

Rijeka, srpanj 2020.

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Poljoprivredni odjel

Poreč, 01.09. 2019.

ZADATAK za specijalistički završni rad

Pristupniku: Igor Sušanj

MBS: 2421200004/18

Studentu specijalističkog diplomskog stručnog studija vinarstvo izdaje se zadatak specijalističkog završnog rada – tema specijalističkog završnog rada pod nazivom: „USPOREDBA SACCHAROMYCES I NE – SACCHAROMYCES KVASACA U VINU MERLOT (*Vitis vinifera* L.)“

Sadržaj zadatka: U svrhu izrade specijalističkog rada potrebno je obraditi opću problematiku ne-Saccharomyces kvasaca u vinarstvu kroz dostupnu literaturu, te pobliže opisati Ne – saccharomyces kvasac *Torulasporea delbrueckii*. U svrhu usporedbe izvršiti vinifikaciju varijante *Saccharomyces cerevisiae* kvasaca D254 (Lallemand) i Ne – saccharomyces kvasaca *Torulasporea delbrueckii* – Biodiva TD 291 (Lallemand) u dvije repeticije na sorti Merlot. U radu je potrebno opisati njihov utjecaj na kvalitetu i senzorna svojstva vina.

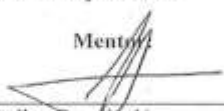
Preporuka:

Rad obraditi sukladno odredbama Pravilnika o završnom radu Veleučilišta u Rijeci.

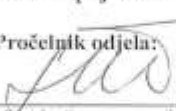
Zadano: 01. rujna 2019.

Predati do: 15. srpnja 2020.

Mentor:


Kristijan Damijanić, mag.agr.

Pročelnik odjela:


Dr.sc. Mario Staver, prof.v.š.

Zadatak primio dana: 01. rujna 2019.


Igor Sušanj

Dostavlja se:
- mentoru
- pristupniku

IZJAVA

Izjavljujem da sam specijalistički završni rad pod naslovom „**USPOREDBA SACCHAROMYCES I NE - SACCHAROMYCES KVASAČA U VINU MERLOT (*Vitis vinifera* L.)**“ izradio samostalno pod nadzorom i uz stručnu pomoć mentora Kristijana Damijanića, mag.agr.

Ime i prezime

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Sušanj S.', is written over a horizontal line.

(potpis studenta)

SAŽETAK

Tema ovog diplomskog rada bila je usporedba kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* D 254 i Ne – *saccharomyces* kvasaca *Torulaspota delbrueckii* – Biodiva TD 291. Vinifikacija je odrađena u dvije varijante, samo u varijanti 1 rehidracija i dodatak kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* D254 (Lallemand) odmah u masulj prilikom punjenja u bačve, dok u varijantu 2 dodatak Ne – *saccharomyces* kvasaca *Torulaspota delbrueckii* – Biodiva TD 291 (Lallemand) i kvasca *Saccharomyces cerevisiae* D 254 (Lallemand) kroz dvije inokulacije.

Ključne riječi: *kvasci, vinifikacija, rehidracija, masulj, inokulacija*

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. MERLOT	2
2.1. Morfologija sorte Merlot	3
2.2. Vino Merlot	4
3.KVASCI	5
3.1. Kriteriji za odabir kvasaca	7
3.2.Torulaspora delbrueckii	7
4.LOKACIJA NASADA	9
5. OPIS I KARAKTERISTIKA ZEMLJIŠTA	10
5.1. Pedološke karakteristike tla	11
5.2. Ampelotehnički zahvati u vinogradu	11
6.MATERIJALI I METODE	14
6.1.Opis kvasaca	14
6.2.Berba i vinifikacija	16
7. METODE ODREĐIVANJA PARAMETARA U MOŠTU I VINU	21
7.1. Metoda određivanja parametara u moštu i vinu	21
7.2. Određivanje količine šećera u moštu i vinu	21
7.3. Određivanje šećera u moštu pomoću moštne vage	21
7.4. Određivanje šećera u moštu pomoću digitalnog refraktometra	22
7.5. Volumetrijska metoda određivanja šećera u vinu	23
7.6. Određivanje ukupnih kiselina u moštu	24
7.7 Određivanje realne kiselosti ili pH vina	25

8. REZULTATI I RASPRAVA	26
8.1. Rezultati kemijske analize mošta	26
8.2. Rezultati kemijske analize vina.....	27
8.3. Rezultati praćenja šećera i temperature	28
8.4. Senzorna analiza vina	31
8.4.1. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina	31
9. ZAKLJUČAK	36
Literatura.....	37
Popis slika, tablica i grafikona	39
Prilozi.....	41

1. UVOD

Alkoholna fermentacija mošta je složeni biokemijski proces u kojem kvasci vina igraju temeljnu ulogu tijekom pretvorbe šećera u etanol, ugljični dioksid i mnogobrojne sekundarne produkte. Kvaliteta vina uvjetovana je sa više faktora, a uključuje vinogradarsku praksu, tehnologiju proizvodnje vina i soj primijenjenoga kvasca. Naime mikroorganizmi mogu utjecati na kvalitetu grožđa prije berbe, tijekom fermentacije te na starenje ili konzerviranje vina. Mošt sadrži nekolicinu mikroorganizama koji mogu pretvoriti šećer u etanol i CO₂, a znanstveno je dokazano da *S. cerevisiae* predstavlja najvažnije sredstvo u alkoholnoj fermentaciji. Međutim, svoju ulogu u fermentacijskom procesu imaju i ne-*Saccharomyces* kvasci. Ranije studije smatraju ne-*Saccharomyces* kvasce „divljim“ ili „kvarljivim“, jer su često bili razlog prestanka ili zastoja fermentacije te su dobivena vina često imala anomalije u senzornom i analitičkom profilu.

Ne - *Saccharomyces* kvasci su pokazali nekoliko negativnih metaboličkih i fermentacijskih karakteristika, kao što su proizvodnja octene kiseline, acetaldehida, etil acetata te nepoželjnih mirisa kao vinil i etil fenole povezane s razvojem *Brettanomyces/Dekkera*. Štoviše, većina ne - *Saccharomyces* kvasaca pokazuje ograničene fermentacijske sposobnosti i slabu otpornost na SO₂. Međutim, znanost dolazi do saznanja da u zajedničkoj fermentaciji sa *S. cerevisiae* ne dolazi do nekih negativnih enoloških karakteristika ne - *Saccharomyces* kvasaca što dovodi do daljnjih ispitivanja njihove uloge u proizvodnji vina. Tijekom zadnjih desetljeća ostvaren je veliki napredak u razumijevanju ekologije, fiziologije, biokemije i molekularne biologije kvasaca uključenih u fermentacijski proces. Provedene su studije o utjecaju kvasaca na sastav, senzorska svojstva i finalnu aromu vina. Trenutne spoznaje pokazuju da je sastav kvasaca koju su uključeni u proces fermentacije mnogo kompleksniji od onoga što se smatralo i da vrste ne - *Saccharomyces* kvasaca igraju važnu ulogu u metaboličkom putu i kompleksnosti finalne arome vina. U tom kontekstu, radi unapređenja kemijskog sastava i senzorskih karakteristika vina uključivanje ne - *Saccharomyces* kvasaca zajedno sa *Saccharomyces* kvascima kao dio miješane i multistarter fermentacije donosi znatne prednosti u odnosu na spontane, a često i problematične fermentacije.

2. MERLOT

Merlot potječe iz Francuske gdje se i najviše uzgaja. Kod nas se mjestimice uzgaja u sjevernim krajevima, prikladan je za područje sjevernog Jadrana. Sinonimi: Franc, Merlot noir, Merlau, Plant Medoc, Vitraille i dr.

Postoji nekoliko klonova i to:

- Merlot Rauscedo 3 (klon je srednje bujnosti, znatne rodnosti)
- Merlot Rauscedo 12 (klon bujan i rodan)
- Merlot Rauscedo 18 (klon je vrlo bujan i rodan)
- Merlot VCR 1 (klon srednje bujnosti, rodnost srednja i redovita)
- Merlot VCR 13 (klon dobre bujnosti, grozd srednji, pogodan za dugo starenje)
- Merlot VCR 101 (bobice i grozd ograničene veličine, postotak šećera odličan i ukupne kiseline srednje).

Slika 1. Sorta Merlot



Izvor: <https://www.google.com>

2.1. Morfologija sorte Merlot

Vršci mladica su vunasti, mladi listići na rubovima su ružičasti. Cvijet je dvospolan. Odrasli list je okruglast, trodijelan do peterodijelan, u jesen na rubovima pocrveni u mrljama. Zreo grozd je srednje veličine, valjkast, često sa sugrozdíćem na koljencu. Rozgva je srednje debljine ili deblja, smeđecrvene boje (mahagonij), ljubičasto oprášena, s crnim točkama. Rast je snažan i poluspravan. Ovu sortu krasí redovita rodnošć, otpornost od smrzavanja zimi i od gljivičnih oboljenja, ali nešto je veća osjetljivost na peronosporu na grozdu. Sorta je prilagođena za različite tipove tla i klime, ali ne podnosi jako toplu i sušnu klimu osim ako se ne vrši navodnjavanje. Dozrijeva u srednjoj epohi.

Slika 2. Cvijet, grozd i list sorte Merlot

MERLOT CRNI



Izvor: (Ampelografski atlas, Nikola Mirošević)

2.2. Vino Merlot

Prosječne ukupne kiseline su oko 6,5 g/L, šećeri se kreću u prosjeku od 14-20 po Baboou, prosjek alkohola 12.5 vol%. Vino je intezivno rubin crvene boje, karakterističnog okusa na trave s dosta alkohola, te relativno ugodnom vinskom kiselinom. Vino je dobre kvalitete, ali još je bolje ako se miješa sa vinom sorte Cabernet.

Slika 3. Boca od 0,75 L, Meneghetti Merlot



Izvor: <https://www.google.com>

3. KVASCI

Alkoholna fermentacija je biokemijski proces u kojem su kvasci glavni nositelji. Kvasci alkoholne fermentacije dijele se na rodove, vrste i sojeve, a u proizvodnji vina najznačajniji su iz roda *Saccharomyces*. *Saccharomyces cerevisiae* uz glavnu ulogu da metaboliziraju šećer iz mošta u alkohol i CO₂, odgovorni su za formiranje sekundarnih metabolita te pretvaranje groždanih aromatskih prekursora u sortnu vinsku aromu. No, mošt sadrži različite vrste kvasaca, a shodno tome alkoholna fermentacija nije određena jednom vrstom kvasaca (Jolly i sur., 2014., 215–237.). Općenito, vinske kvasce možemo podijeliti na autohtone i selekcionirane ili inokulirane. Autohtoni kvasci su prirodno prisutni na bobici grozda i pri povoljnim uvjetima mogu provesti alkoholnu fermentaciju. Za razliku od njih selekcionirani kvasci nisu prirodno prisutni, već se dodaju u mošt, a na tržištu su najčešće prisutni u liofiliziranom obliku. Kako bi se postigla veća tipičnost vina ponovno na značaju dobivaju autohtoni sojevi, ali laboratorijski izolirani i aktivirani sojevi. Time se izbjegavaju kvasci s nepovoljnim svojstvima, a odabiru sojevi s poželjnim svojstvima. Trenutno najbolje rješenje za naglašavanje tipičnosti vina je uključivanje ne-*Saccharomyces* kvasaca zajedno s *Saccharomyces* kao dio miješane i multistarter kulture (Ciani i sur., 2010., 123–133).

Kvasci koji se danas upotrebljavaju u vinskoj praksi moraju zadovoljiti određene uvijete, kao što su aktivnost pri nižim temperaturama alkoholne fermentacije i višim koncentracijama SO₂. Međutim, važna je i njihova pravilna primjena kako bi se osigurala kvalitetna i sigurna fermentacija.

Kvasci proizvode mnogobrojne enzime koji mogu utjecati na miris vina, ali i na ostala svojstva. Uloga enzima esteraze, dekarboksilaze, sulfid reduktaze, proteaze i pektinaze još uvijek nije u potpunosti objašnjena. Utjecaj autolize i bioadsorpcije kvasaca također nije u potpunosti razjašnjen jer se smatralo da nije toliko važan.

No, postoji mogućnost da se upravo taj utjecaj podcijenio i njegovo buduće istraživanje moglo bi dati odgovore na nerazjašnjena pitanja o utjecaju kvasca na završni karakter vina. Autoliza kvasaca nesumnjivo pridonosi jedinstvenom karakteru pjenušavih vina, a autolitički potencijal smatra se bitnom karakteristikom kod izbora sojeva *S. cerevisiae* za sekundarnu fermentaciju vina. Autolizom mrtvih stanica kvasca dolazi do degradacije staničnih proteina, nukleinskih kiselina i lipida te nastaju aminokiseline, peptidi, masne kiseline i nukleotidi, uz oslobađanje manoproteina. Veći dio ovih komponenta može utjecati na poboljšanje mirisa i okusa vina. Uz to, oslobođeni peptidi pokazuju antioksidacijsko i ostala bioaktivna djelovanja. Oslobođeni manoproteini iz staničnih stijenki kvasaca mogu na više načina utjecati na karakter vina. Poznato je da manoproteini imaju mogućnost djelovanja na miris i stabilnost vina preko procesa bioadsorpcije.

Kvasci utječu i na boju te profil pigmentata u vinu. Kvasci kroz proizvodnju etanola potiču ekstrakciju antocijana iz kožice grožđa, a mogu proizvoditi i ekstracelularne pektinaze koje pomažu razbijanje tkiva grožđa. No mogu utjecati i na smanjenje intenziteta boje kroz djelovanje glukozidaze na razbijanje veze između antocijanidina i šećera te kroz adsorpciju antocijana polisaharidima stanične stijene. Bitan je i njihov utjecaj na stabilnost boje tijekom starenja, naime proizvedeni acetalaldehid i pirogroždana kiselina olakšavaju stvaranje pirantocijana. *S. cerevisiae* pokazuju varijabilan utjecaj s obzirom na soj i to se treba uzeti u obzir pri odabiru kvasaca za starter kulturu, dok kod ne-*Saccharomyces* kvasaca utjecaj nije u potpunosti ispitan.

3.1. Kriteriji za odabir kvasaca

Kriteriji za odabir kvasca za vinifikaciju temelje se na tome kako kvasac utječe na odvijanje fermentacijskog procesa, kvalitetu i karakter vina te komercijalnu proizvodnju vina. Najbitnije je da kvasac u potpunosti fermentira groždane šećere u visoke koncentracije etanola. Bitna je i njegova neosjetljivost na sumporni dioksid, dobra topljivost u moštu, slabo formiranje pjene i brza sedimentacija na kraju fermentacije. Ova svojstva moraju biti dobro izražena pri niskim temperaturama za fermentaciju bijelih vina, a za crna vina pri višim temperaturama. Što se tiče utjecaja na kvalitetu i karakter vina bitno je da kvasac proizvede uravnoteženi sastav mirisnih metabolita, bez prisustva nepoželjnih hlapljivih komponenti. Naravno ne smije negativno utjecati na boju i karakteristike tanina, a svojim djelovanjem mora poticati nastanak poželjnih sortnih aroma. U komercijalnoj proizvodnji vina postoje određeni zahtjevi koje kvasac mora zadovoljiti, a to su: nizak trošak proizvodnje i visoka održivost tijekom svih procesa uključujući sušenje, pakiranje, skladištenje i ponovna rehidracija.

Odabir kvasaca može značajno utjecati na senzorske karakteristike vina. Pojedina vinska tržišta zahtijevaju određene senzorske karakteristike i upravo je odabir kvasca ključan za dobivanje vina s traženim karakteristikama.

3.2. *Torulaspóra delbrueckii*

Torulaspóra delbrueckii je jedan je od prvih komercijalnih ne-*Saccharomyces* kvasaca ranije nazvan kao *Saccharomyces rosei*. Prvobitno ime je proizašlo iz njegove upotrebe u vinifikaciji mošta s malo šećera i kiselina za proizvodnju crnih i rose vina u Italiji. Nedavno se pokazalo da čiste kulture *T. delbrueckii* proizvode manje hlapivih kiselina nego *S. cerevisiae*, stoga su korisne u proizvodnji vina zaraženog grožđa *botritisom* sa visokim udjelom šećera u moštu. *T. delbrueckii* proizvodi i druge metabolite poput sukcinjske kiseline i linalol, derivat monoterpenskih alkohola odgovoran za nadopunu sortne arome muškarnih vina. Kroz utjecaj na sastav vina *T. delbrueckii* utječe i na miris vina.

Koinkulacijska strategija *T. delbrueckii* i *S. cerevisiae* kod Sauvignon blanca i Chenin blanca pokazala se bolja nego kontrolna sa *S. cerevisiae* kvascima. Slični rezultati dobiveni su i kod Amarone crnih vina gdje je dokazano da koinkulacijska strategija pojačava intenzivnost arome, povećava slatkoću i trpkost te smanjuje intenzitet vegetabilnih atributa.

Slika 4. Mikroskopska slika *Torulasporea delbrueckii*.



Izvor:<http://www.giornaledellabirra.it/produzione/lieviti-non-saccharomyces-torulasporea-delbrueckii>

4. LOKACIJA NASADA

Merlot koji se koristio za ovaj specijalistički završni rad dolazi sa Stancije Meneghetti, koja se nalazi u mjestu Bale, Istarska županija. U nasadu je posađeno pet različitih sorti: Chardonnay, Pinot bijeli, Cabernet Sauvignon, Cabernet franc i Merlot. Crne sorte su sađene u omjeru 80 % Merlot, 15 % Cabernet Sauvignon i 5 % Cabernet franc. Sve sorte su posađene na podlozi (K5BB).

Slika 5. Lokacija nasada



Izvor: izrada autora

5. OPIS I KARAKTERISTIKE ZEMLJIŠTA

Parcela se nalazi u sklopu cjelokupnog imanja Stancije Meneghetti, K.Č.5342/2 ; K.O. Bale. Pošto je vinograd u sklopu imanja komunikacija je nesmetana, a postavljen je i sistem za navodnjavanje po čitavom nasadu. Na većem dijelu parcele redovi idu u smjeru istok-zapad, dok u drugom dijelu parcele redovi imaju smjer sjever-jug, zbog prilagodbe objektima koji se nalaze u neposrednoj blizini. Razmak između redova je 2,3 m a unutar reda 1 m. Vinograd je postavljen u tim smjerovima i zbog konfiguracije terena posjeda.

Slika 6. Redovi u nasadu



Izvor: izrada autora

5.1. Pedološke karakteristike tla

Tip tla na kojem je nasad podignut spada u tip tla crvenice. Crvenice, tipična tla Mediterana, izvorno su siromašna humusom, te je kod podizanja nasada potrebno obaviti dodatnu organsku gnojidbu. Crvenice spadaju u grupu tala sa neutralnom pH vrijednosti. Crvenice su također slabo opskrbljene fosforom i kalijem. Crvenice su pogodna tla za višegodišnje nasade. Pa je zbog tih činjenica je obavezno prije podizanja nasada obaviti kemijsku analizu da bi se gnojidba mogla pravilno izvršiti. Kako je većina crvenica vrlo kisele reakcije, kod prihrane vinove loze dušikom treba koristiti KAN (27 %), a iz upotrebe izbaciti UREU.

5.2. Ampelotehnički zahvati u vinogradu

Tijekom vinifikacije provedena je defolijacija (slika 3 i 4), te je reduciran prinos grožđa po trsu (slika 6).

Slika 7. Merlot prije defolijacije



Izvor: izrada autora

Slika 8. Merlot nakon provedene defolijacije



Izvor: izrada autora

Slika 9. Merlot u fazi šare



Izvor: izrada autora

Slika 10. Reducirani prinos grožđa Merlot



Izvor: izrada autora

6. MATERIJALI I METODE

6.1. Opis kvasaca

U istraživanju koristili smo dva kvasca, *Saccharomyces cerevisiae* D254 i ne – *saccharomyces* kvasac *Torulasporea delbrueckii* Biodiva TD 291, oba proizvođač – Lallemand. U nastavku slijedi opis kvasaca.

Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* D254 – Lallemand

Izoliran je 1997. godine od fermentacije Shiraza u vinariji Costieres de Nimes, Dolina Rhone. Odabran je ovaj kvasac nakon pregledanih 3000 izolata, od kojih je 450 odabrano za njihova enološka svojstva. U crnim vinima Lalvin D254 doprinosi voću srednjeg intenziteta arome, kao šljive i kupine. Izdvajanje antocijana i tanina je visoko. Lalvin D254 se također koristi u vinu Chardonnay gdje daje svoj doprinos aromama maslačka, maslaca, vrhnja, dima ili oraha. Lallemand preporučuje da se iskoristi za miješanje s drugim kvascima, dajući vino s dobrim voćnim izrazom i izuzetne složenosti. Pojačava osjećaj u ustima zahvaljujući proizvodnji polisaharida. Da bi se maskirale vegetativne karakteristike u crvenim vinima, posebno u okolnostima tamo gdje se ubralo voće prije optimalne zrelosti, predlaže se fermentacija sa dijelom vina (25-50 %) s vinificiranim Lalvinom D254, a drugi dio vinificiran s ICV GRE.

Ne – *saccharomyces* kvasac *Torulasporea delbrueckii* Biodiva TD 291 – Lallemand

Biodiva je čista kultura *Torulasporea delbrueckii*, odabrana zbog svojih svojstava za poboljšanje aromatičnosti vina i složenosti u ustima. Koristi se u uzastopnoj inokulaciji s kompatibilnim i odabranim *Saccharomyces cerevisiae* kvascima. Biodiva će pomoći kontrolirati razvoj aromatične složenosti vina favorizirajući percepciju određenih estera bez preopterećenja vina.

Zbog slabe proizvodnje hlapivih kiselina i tolerancije na osmotski tlak, Biodiva je posebno prilagođena za fermentiranje kasne berbe i ledenih vina. Preporučljiv je za vina Chardonnay, Semillon i desertna vina, te je uspješno korištena na vinu Pinot Noir i Shiraz.

Slika 11. Korišteni kvasci



Izvor: izrada autora

6.2. Berba i vinifikacija

Berba grožđa sorte Merlot (*Vitis vinifera* L.) obavljena je 08. listopada 2019. godine u Balama na Stanciji Meneghetti. Bralo se ručno u kašete, a svaka kašeta je težila 17 kg. Grožđe je odmah nakon berbe stavljano u hladnjaču, kako bi se osigurali optimalni uvjeti prerade. Za prešanje je korištena pneumatska preša (Letina inox d.o.o., Čakovec, Hrvatska).

Provedena je vinifikacija u dvije varijante, sa po dvije repeticije od 85 kg grožđa po bačvi (cca 70L masulja). Muljanje – runjenje grožđa uz dodatak 4g $K_2S_2O_5$ /100 kg grožđa.

U varijanti 1 obavljena je rehidracija i dodatak kvasaca *S. cerevisiae* D 254 – Lallemand odmah u masulj prilikom punjenja u bačve. U istraživanju korištena je hrana za kvasce (Nutristart – Laffort 25 g/hl). Nakon što se Nutristart otopio i temperatura pala na 37° C dodan je kvasac koji je bubrio 20 minuta i nakon toga se dodavao hladni mošt. Temperatura kvasaca spuštena je na maksimalnu razliku temperature u odnosu na masulj 8 °C. Cijela priprema kvasca nije smjela biti duža od 45 minuta (u ovo vrijeme ne računamo vrijeme potrebno za otapanje Nutristarta).

U varijanti 2 dodan je ne – saccharomyces kvasac *Torulasporea delbrueckii* – Biodiva TD 291 – Lallemand i kvasac *S. cerevisiae* D 254 – Lallemand kroz dvije inokulacije. U 250 ml (10 puta veća količina od kvasaca) mlake vode na 30 °C rehidriran je ne *Saccharomyces* kvasac *Torulasporea delbrueckii* 25 g/hl – Lallemand (GPE mu nije potreban, jer fermentira samo par dana). Kvasac je bubrio 15 minuta i nakon toga dodao sam hladni mošt (cca 250 ml) koji je odmah spreman za inokulaciju. Temperaturu kvasca spustio sam na maksimalnu razliku temperature u odnosu na masulj 8 °C (ta se temperatura lako postiže, jer je voda u rehidraciji kvasaca samo 30 °C). Kvasac sam pripremio 20 minuta prije muljanja – runjenja grožđa tako da sam kontinuirano dodavao i miješao odmah u masulj prilikom punjenja bačve. Slobodni SO₂ ne smije biti veći od 15 mg/L. Nakon smanjenja početnog sadržaja šećera (7 – 13 °Oe) slijedila je inokulacija kvascem *S. cerevisiae* D 254. U istraživanju korištena je hrana za kvasce (Nutristart – Laffort 25 g/hl).

Korištene su 4 inox bačve, zapremine 130 L, koje sam posudio sa Poljoprivrednog Odjela u Poreču, te ih prebacio u podrum na Stanciji Meneghetti, kako bi mogao nesmetano svakodnevno pratiti i bilježiti promjene u vinu.

Slika 12. Bačve korištene za alkoholnu fermentaciju sa *S. cerevisiae* kvascem D 254



Izvor: izrada autora

Slika 13. Bačve korištene za alkoholnu fermentaciju sa ne - *Saccharomyces* kvascem Biodiva TD 291



Izvor: izrada autora

Korekcije masulja pojačavanjem saharoze prije alkoholne fermentacije nije bilo, jer je izmjereno 13,5 vol % potencijalnog alkohola. Dodana je hrana za kvasce 25 g/hl mošta, i to samo 1 obrok (Nutristart – Laffort), nakon 1/3 alkoholne fermentacije. Maceracija je trajala 18 dana na 20 °C uz potapanje 4 puta dnevno. U terminima 08:00. pa u 12:00, u 16:00, te u 20:00 sati. Prešanje je izvršeno uz sumporenje 8g $K_2S_2O_5$ /hl masulja, a tijekom čuvanja vina izvršena je kontrola i eventualna korekcija slobodnog SO_2 na 25 mg/L. Prvi pretok bio je 24 sata nakon prešanja, a drugi pretok izvršen je treći dan nakon prešanja.

Iz svake bačve vina ostavljena su četiri bocuna zapremine 10 L. Svi bocuni odneseni su u studentski podrum Poljoprivrednog Odijela u Poreču 19. studenog 2019. godine. Za senzornu analizu ostavljene su dvije boce od svakog uzorka u koje je dodana 1 % otopine $K_2S_2O_5$ u koncentraciji 5,4 ml /750 ml, te je povećan slobodni SO_2 na 25 mg/L, a bocuni su povećani na 15 mg/L slobodnog SO_2 radi kvalitetnijeg čuvanja vina.

Slika 14. Bocuni od sva četiri uzorka vina



Izvor: izrada autora

Slika 15. Otopina $K_2S_2O_5$



Izvor: izrada autora

7. METODE ODREĐIVANJA PARAMETARA U MOŠTU I VINU

Analiza mošta obavljena je u laboratoriju Stancije Meneghetti u Balama. Dok je analiza vina obavljena u Centro di Riferimento Enologico – Friuli – Italija.

7.1. Metoda određivanja parametara u moštu i vinu

Uzorci mošta uzeti su nakon muljanja – runjenja, dana 09. listopada 2019. godine. Za određivanje šećera, kiselina, pH te postotak alkohola u moštu korištene su analitičke metode prema O.I.V.-u. Uzorci vina uzeti su nakon prvog pretoka 29. listopada 2019. godine, te 05. studenog. 2019. godine.

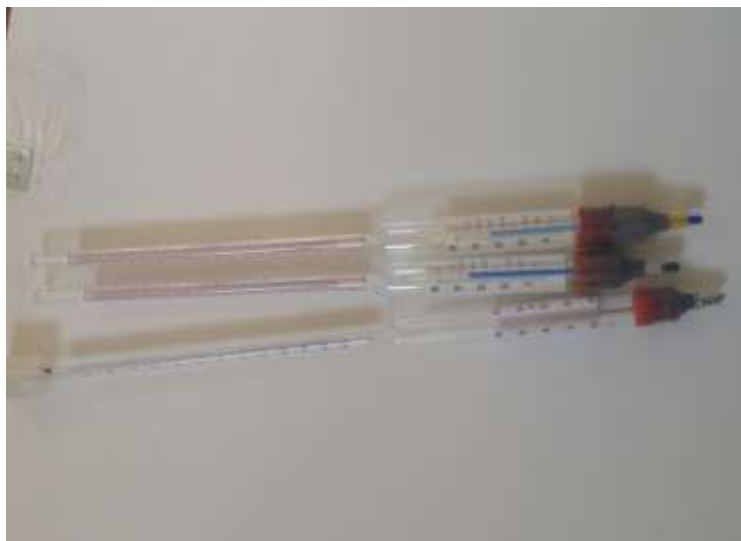
7.2. Određivanje količine šećera u moštu i vinu

Sadržaj šećera u moštu određivali smo pomoću moštne vage i pomoću digitalnog refraktometra.

7.3. Određivanje šećera u moštu pomoću moštne vage

Koriste se moštne vage po Oechsle-u ($^{\circ}\text{Oe}$) i Klosterneuburg-u ili Babo-u ($^{\circ}\text{KI}$). Moštna vaga je vrlo jednostavan i jeftin instrument. Koristi se za mjerenje količine šećera u moštu i vinu. Radi se o šupljoj staklenoj cjevčici zatvorenoj sa obje strane, dodatno otežanoj sa donje strane, a sa gornje strane ima baždarenu skalu koja nam pokazuje koliko je moštna vaga uronila u mošt odnosno vino. Svaka moštna vaga baždarena je na određenoj temperaturi. Točni rezultati se dobivaju na određenoj temperaturi, u protivnom se vrše korekcije mjerenja obzirom na temperaturu.

Slika 16. Moštna vaga



Izvor: izrada autora

7.4. Određivanje šećera u moštu pomoću digitalnog refraktometra

Malen i prenosiv digitalni refraktometar konstruiran je za određivanje šećera u vinu i moštu. Mjeri sa visokom preciznošću od ± 0.1 °Babo. Sva mjerenja se automatski korigiraju odnosom na temperaturu uzorka, vrijeme potrebna za analiziranje je 1.5 sekunda. Potrebno dvije kapi (100 mikrolitara) za naliziranje. Čelija za uzorkovanje je od kromiranog stakla okružena nehrđajućim čelikom koja se vrlo lagano čisti, samo se ispere destiliranom vodom i obriše mekanom maramom i uređaj je spreman za novu analizu.

Slika 17. Digitalni refraktometar



Izvor: izrada autora

7.5. Volumetrijska metoda određivanja šećera u vinu

Volumetrijska metoda određivanja šećera u vinu koristi se pri kraju alkoholne fermentacije, odnosno za određivanje ne provrelog šećera u vinu. Za spomenutu analizu potrebno nam je: Fehling otopina I te 5 %-tna otopina glukoze i indikator metilen plavi 1%. Kuhanjem Fehlingove otopine sa otopinom šećera taloži se crveni Cu_2O -oksid (netopivi crveno-narančasti talog) ili bakreni oksidul, a šećer oksidira u glukuronsku kiselinu. Metoda nalaže dekoloriranje uzorka korištenjem aktivnog ugljena kako bi se uklonile obojene tvari iz vina, posebice crnih. Postupak za slijepu probu je sljedeći: u Erlen-mayer tikvicu dodamo 5 ml Fehling otopine i 5 ml Fehling otopine II, 40 ml vode, dvije staklene kuglice i par kapi metilen plavog. Uzorak zagrijavamo do ključanja i titriramo sa 0.5 % otopinom glukoze do prelaska boje u ciglasto narančastu. Postupak za uzorak ponovimo sa dodatkom 10 ml vina. Nakon izračuna uz pomoć formule dobije se rezultat izražen u g/L iz čega se može zaključiti u koji tip vina spada uzorak s obzirom na količine ne provrelog šećera.

Slika 18. Dekoloriranje uzoraka crnih vina



Izvor: izrada autora

7.6 Određivanje ukupnih kiselina u moštu

Ukupne kiseline u moštu određivali smo metodom neutralizacije svih kiselina i njihovih soli pomoću otopine NaOH poznate koncentracije. Uzorak mošta titriramo NaOH otopinom uz dodatak dvije kapi indikatora bromtimol plavi (1 %) do promjene boje u modro-zelenu. Ta promjena boje označava neutralizaciju. Na skali očitamo utrošak NaOH i pomnožimo faktorom 0.75 te na taj način odredimo ukupne kiseline, izražene kao vinska u g/L.

Slika 19. Otopine korištene za određivanje ukupnih kiselina u moštu



Izvor: Izrada autora

7.7. Određivanje realne kiselosti ili pH vina

Realna kiselost izražava se oznakom pH i brojevima od 0-14. Broj 7 označava neutralnu vrijednost otopine. Vrijednost pH mošta i vina kreće se između 2.8 i 3.8. Vina sa nižim pH vrijednostima su kiselića odnosno svježija i obrnuto odnosno tuplja. Realnu kiselost u moštu određivali smo pH metrom na način da se sonda uroni u mošt kasnije u vino i na uređaju očitamo vrijednost.

Slika 20. pH metar



Izvor: www.google.com

8. REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati ovog rada temelje se na rezultatima kemijske analize mošta i vina, te na senzornom ocjenjivanju vina Merlot dobiveno različitim tehnikama vinifikacije.

8.1. Rezultati kemijske analize mošta

Uzorci mošta analizirani su po završetku muljanja – runjenja masulja 09. listopada 2019. godine. Kemijska analiza mošta provedena je u laboratoriju Stancije Meneghetti. Sve četiri bačve (96, 135, 141 i 143) pokazale su ista mjerenja mošta.

Tablica 1. Kemijska analiza mošta nakon muljanja – runjenja masulja

Parametri	Vrijednosti
°Oe	97
°Babo	19,5
Vol % alkohola	13,5
Ukupne kiseline (g/L)	4,1
pH	3,46

Izvor: Izrada autora

8.2. Rezultati kemijske analize vina

Kemijska analiza dva uzorka vina (96 i 141) provedena je 29. listopada 2019. godine, te ostala dva uzorka (143 i 135) su analizirana 05. studenog 2019. godine u „Centro di Riferimento Enologico“ Friuli u Italiji. Iz tablice je vidljivo da si sva vina suha, odnosno ispod razine od 4 g/L neprovrelog šećera. Sadržaj alkohola prati kemijsku analizu mošta. Tijekom dozrijevanja izvršena je kontrola slobodnog SO₂ na 25 mg/L.

Tablica 2. Kemijske analize vina

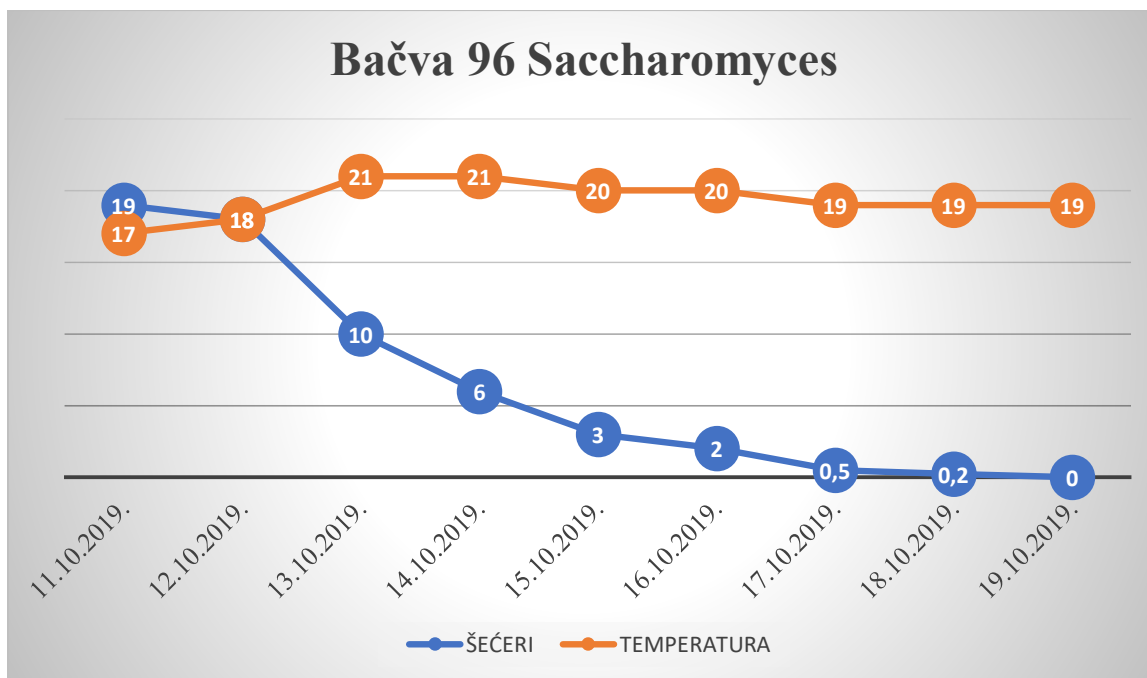
Uzorci - bačve	96	135	141	143
Ukupne kis. (g/L)	5,26	5,71	5,92	5,26
Hlapive kis. (g/L)	0,42	0,42	0,57	0,62
Mliječna kis. (g/L)	<0,05	nije mjereno	0,13	nije mjereno
Jabučna kis. (g/L)	1,34	nije mjereno	1,23	nije mjereno
Vinska kis. (g/L)	1,92	nije mjereno	2,18	nije mjereno
Slobodni sumpor u (mg/L)	6	6	9	6
Molekularni sumpor u (mg/L)	0,09	0,11	0,14	0,08
Ukupni sumpor u (mg/L)	23	27	24	20
pH	3,61	3,54	3,61	3,68
Vol % alkohola	13,49	13,49	13,46	13,26
Šećeri (g/L)	2,57	2,62	2,96	2,58

Izvor: Centro di Riferimento Enologico – Friuli

8.3. Rezultati praćenja šećera i temperature

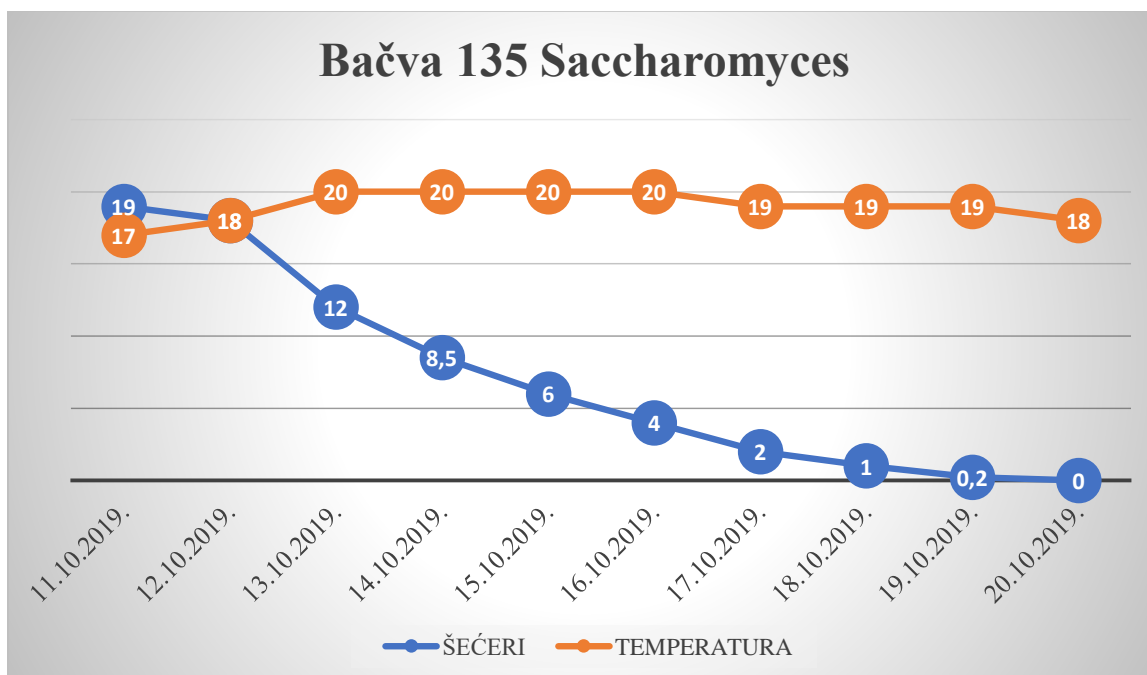
U nastavku je dan pregled praćenja potrošnje šećera i promjene u temperaturi tijekom alkoholne fermentacije i maceracije. Šećeri u bačvi (96), su u najkraćem roku pali na nulu za svega 9 dana. Potrošnja šećera u bačvi (135) je trajala 10 dana, dok je kod bačvi (141) i (143) potrošnja šećera trajala najduže 11 dana. Temperaturni raspon se kretao između 17 °C do 22 °C.

Grafikon 1. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 96



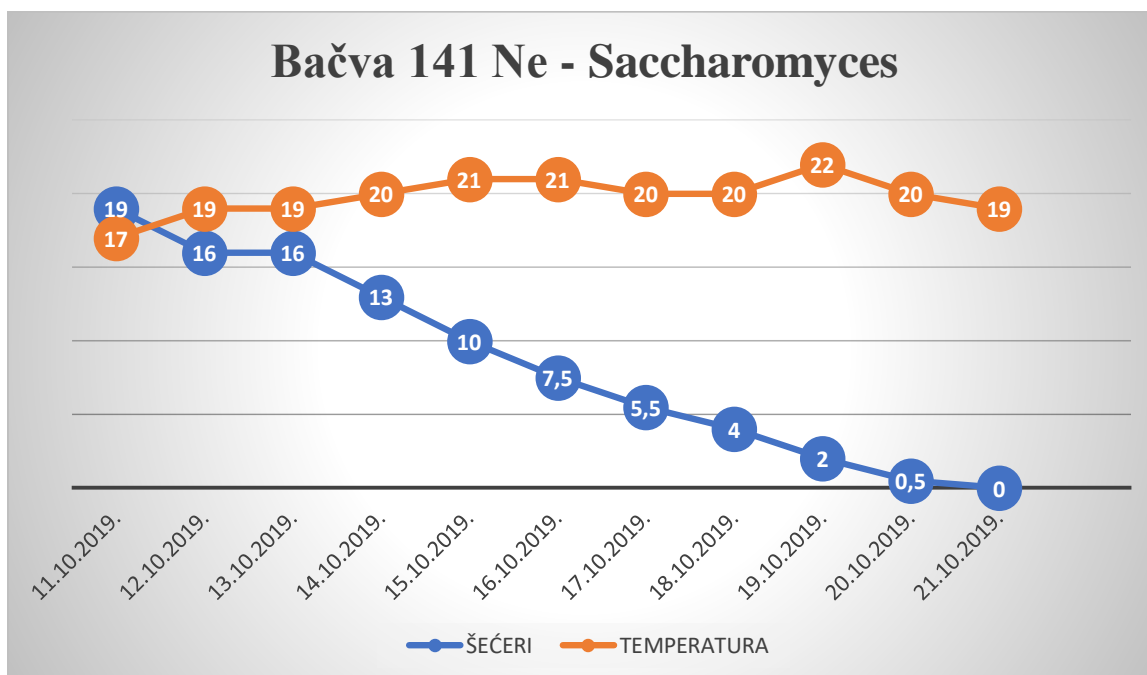
Izvor: izrada autora

Grafikon 2. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 135



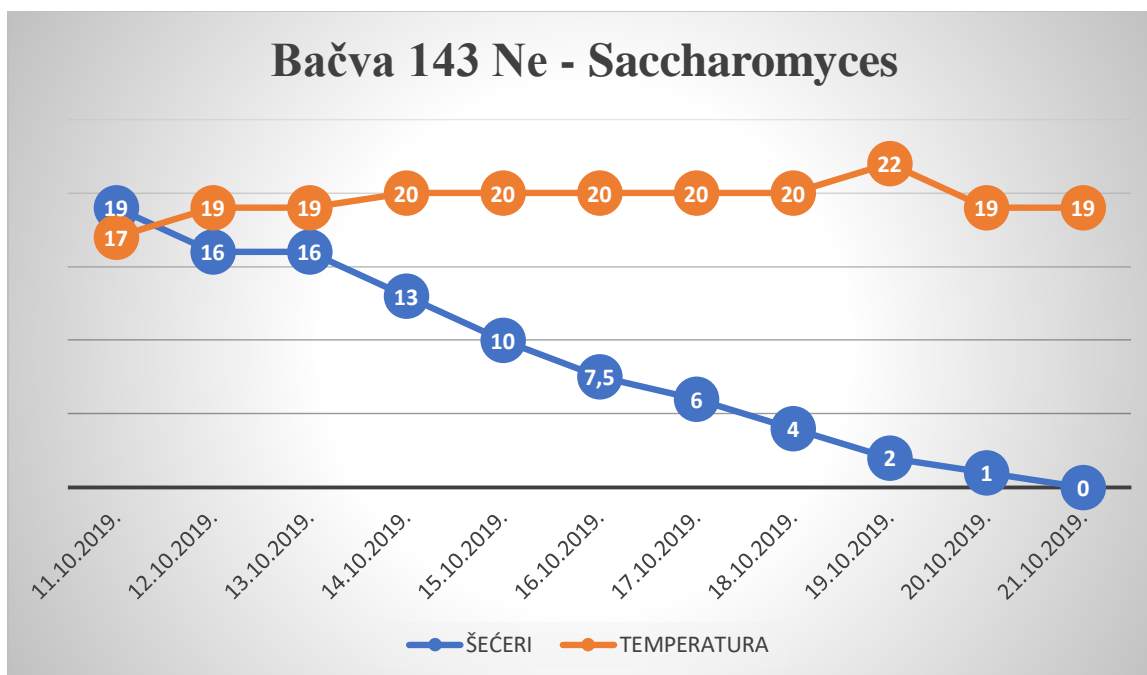
Izvor: izrada autora

Grafikon 3. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 141



Izvor: izrada autora

Grafikon 4. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 143



Izvor: izrada autora

8.4. Senzorna analiza vina

8.4.1. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina

Najbolje je ocijenjen uzorak vina Merlot iz bačve 141 vinificiran dodatkom *Ne-Saccharomyces* kvasaca, odnosno oba uzorka vinificirana dodatkom *Ne-Saccharomyces* kvasaca su ocijenjeni većim ocjenama od uzoraka vinificirana dodatkom *Saccharomyces* kvasaca.

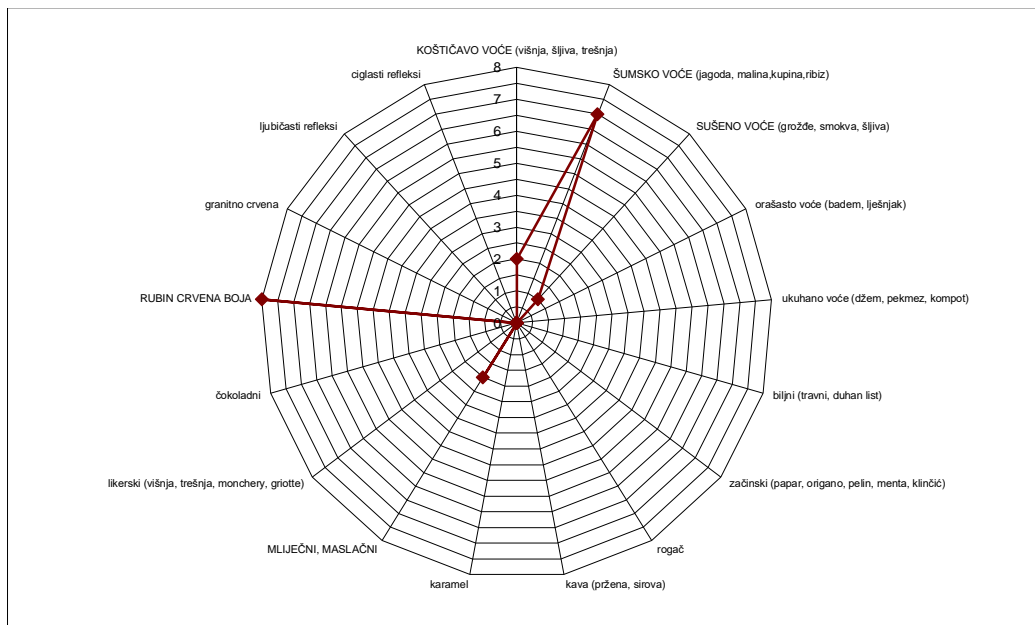
Tablica 3. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina Merlot metodom 100 bodova

Uzorci - bačve	Metoda 100 bodova
96 ¹	81,00
135 ¹	82,00
141 ²	86,00
143 ²	83,00

Izvor: izrada autora, ¹ *Saccharomyces*, ² *Ne – Saccharomyces*;

U nastavku su dane grafičke i opisne karakteristike pojedinih uzoraka vina Merlot:

Grafikon 5. Bačva 96 – *Saccharomyces*

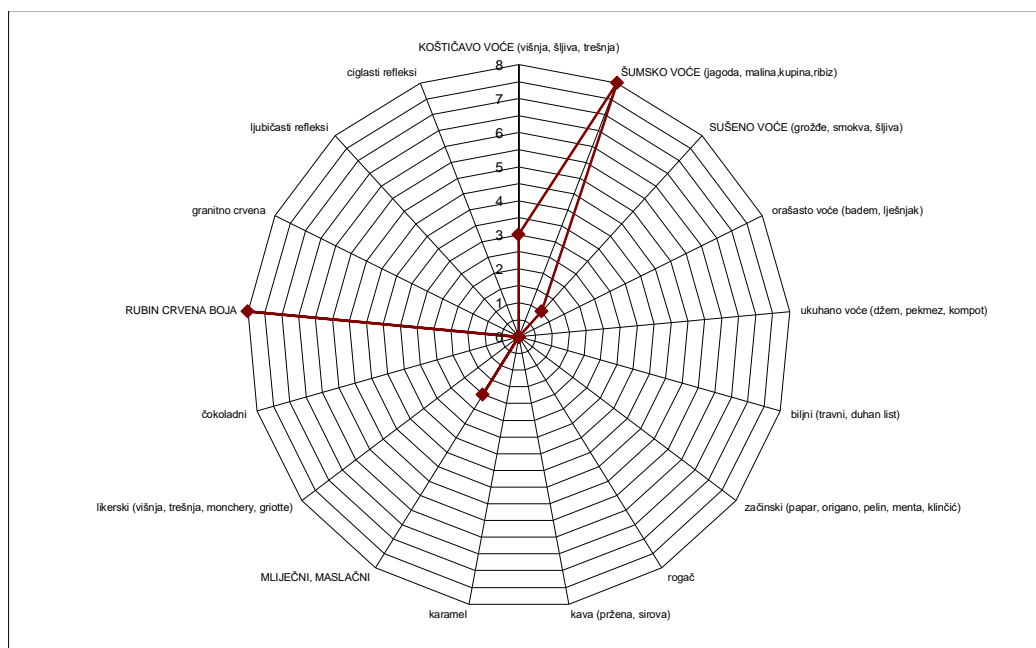


Boja: Rubin crvena.

Miris: Voćni (dominantne arome kupine i blaže izražene voćne arome na jagodu i višnju, u tragovima arome šljive).

Okus: Srednje strukture i punoće, srednje taničnosti, te blago maslačno.

Grafikon 6. Bačva 135 – *Saccharomyces*

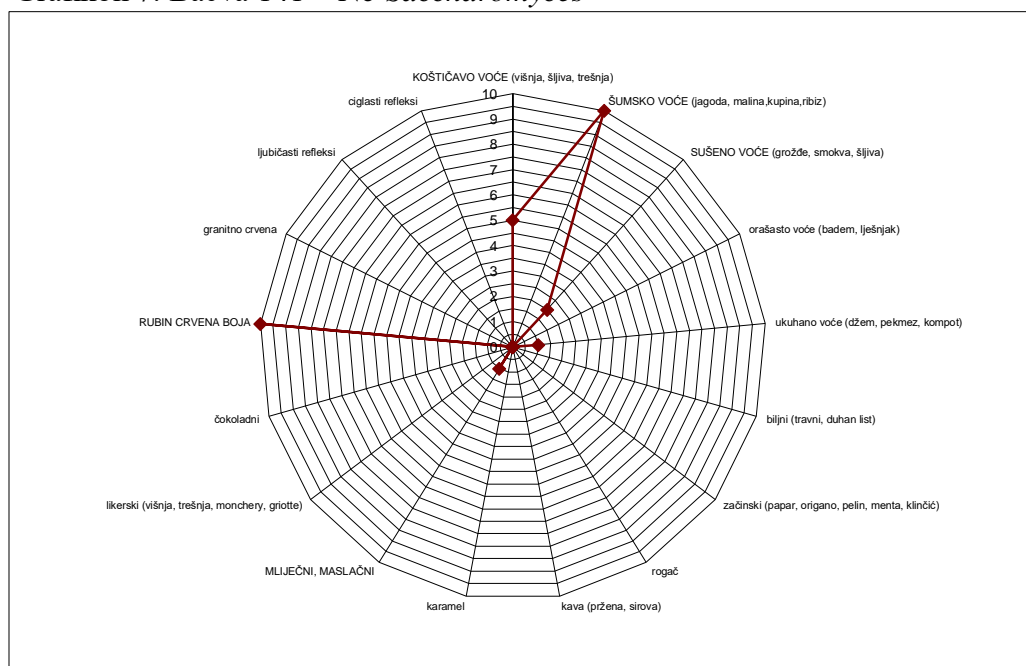


Boja: Rubin crvena.

Miris: Voćni (dominantne arome zrele kupine i blaže izražene voćne arome na višnju i jagodu, u tragovima arome šljive).

Okus: Srednje strukture i punoće, srednje taničnosti, te blago maslačno.

Grafikon 7. Bačva 141 – *Ne-Saccharomyces*

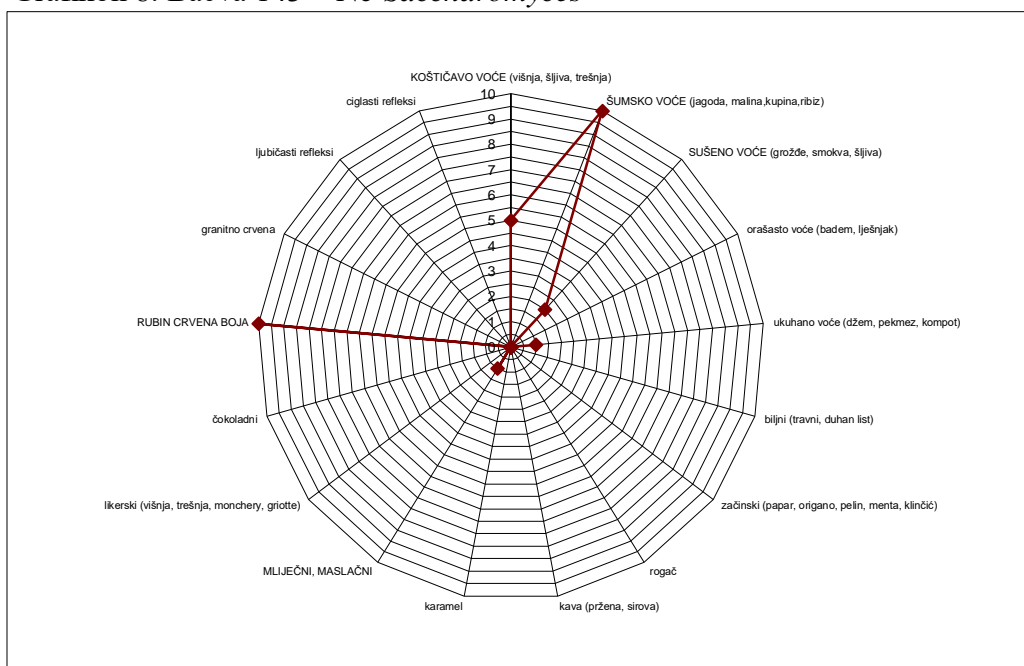


Boja: Rubin crvena.

Miris: Voćni (dominantne arome jagode i blaže izražene voćne arome na višnju i kupinu, u tragovima arome šljive).

Okus: Izraženije strukture i punoće, blago tanično (mekani i blagi tanini), intenzitet i aftertaste duži.

Grafikon 8. Bačva 143 – Ne-*Saccharomyces*



Boja: Rubin crvena.

Miris: Najjači intenzitet voćnosti (dominantne arome višnje i blaže izražene voćne arome na jagodu i kupinu), najkompleksniji nos.

Okus: Srednje strukture i punoće, srednje taničnosti.

Uzorci vinificirani dodatkom *Saccharomyces* kvasaca imali su voćni miris u kojem je prevladavala kupina, dok su uzorci vinificirani dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca, imali su voćni miris u kojem je prevladavala jagoda. Uzorak vina iz bačve 143 vinificiran dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca imao je najizraženiji i najkompleksniji miris, dok je uzorak vina iz bačve 141 također vinificiran dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca imao najizraženiju strukturu i punoću.

9. ZAKLJUČAK

Cilj ovog istraživanja bila je usporedba kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* D 254 i ne – *saccharomyces* kvasaca *Torulaspora delbrueckii* – Biodiva TD 291 na sorti Merlot.

Sva četiri uzorka vina imala su izraženu sortnu rubin crvenu boju i sortne voćne mirise. Uzorci vinificirani dodatkom *Saccharomyces* kvasaca imali su voćni miris u kojem je prevladavala kupina, dok su uzorci vinificirani dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca, imali su voćni miris u kojem je prevladavala jagoda.

Uzorak vina iz bačve 143 vinificiran dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca imao je najizraženiji i najkompleksniji miris, dok je uzorak vina iz bačve 141 također vinificiran dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca imao najizraženiju strukturu i punoću.

Najbolje je ocijenjen uzorak vina Merlot iz bačve 141 vinificiran dodatkom Ne-*Saccharomyces* kvasaca, odnosno oba uzorka vinificirana dodatkom ne-*Saccharomyces* kvasaca su ocijenjeni većim ocjenama od uzoraka vinificirana dodatkom *Saccharomyces* kvasaca.

Možemo zaključiti da dodatak ne-*Saccharomyces* kvasaca utječe pozitivno na ukupnu kvalitetu vina sorte Merlot. S obzirom da je uzorak vina iz bačve 143 imao najizraženiji i najkompleksniji miris, dok je uzorak vina iz bačve 141 imao najizraženiju strukturu i punoću uputno bi bilo iste kupažirati, kao što se i u praksi radi, odnosno odlučiti se za dodatak ne-*Saccharomyces* kvasaca radi dobivanja tržišno željene tipologije vina. Svakako bi istraživanje utjecaja dodatka *Saccharomyces* i ne-*Saccharomyces* kvasaca na kvalitetu vina Merlot trebalo proširiti i na druge tehnološke postupke koji se primjenjuju tijekom alkoholne fermentacije i maceracije, s ciljem dobivanja polifenolno i senzorno bogatijeg vina sorte Merlot.

Radovi:

- OIV, Compendium of international methods of wine and must analysis, Paris, 2016, <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/>
- Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I., Domizio, P., Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non- Saccharomyces yeasts in winemaking, FEMS Yeast Res, vol. 10, 2010., str. 123–133.
- Jolly, N.P., Varela, C., Pretorius, I.S., Not your ordinary yeast: Non-Saccharomyces yeasts in wine production uncovered, FEMS Yeast Res, vol. 14, 2014., str. 215–237.

POPIS SLIKA, TABLICA I GRAFIKONA

Slike:

Slika 1. Sorta Merlot

Slika 2. Cvijet, grozd i list sorte Merlot

Slika 3. Boca od 0,75 L Meneghetti Merlot

Slika 4. Mikroskopska slika *Torulaspota delbrueckii*

Slika 5. Lokacija nasada

Slika 6. Redovi u nasadu

Slika 7. Merlot prije defolijacije

Slika 8. Merlot nakon provedene defolijacije

Slika 9. Merlot u fazi šare

Slika 10. Reducirani prinos grožđa Merlot

Slika 11. Korišteni kvasci

Slika 12. Bačve korištene za alkoholnu fermentaciju sa kontrolnim kvascem D254

Slika 13. Bačve korištene za alkoholnu fermentaciju sa kvascem BIODIVA TD 291

Slika 14. Bocuni od sva četiri uzorka vina

Slika 15. Otopina $K_2S_2O_5$

Slika 16. Moštna vaga

Slika 17. Digitalni refraktometar

Slika 18. Dekoloriranje uzoraka crnih vina

Slika 19. Otopine korištene za određivanje ukupnih kiselina u moštu

Slika 20. pH metar

Tablice:

Tablica 1. Kemijska analiza mošta nakon muljanja – runjenja masulja

Tablica 2. Kemijske analize vina

Tablica 3. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina Merlot metodom 100 bodova

Tablica 4: Obrazac za organoleptičko ocjenjivanje mirnih vina

Grafikoni:

Grafikon 1. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 96

Grafikon 2: Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 135

Grafikon 3. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 141

Grafikon 4. Usporedba šećera i temperature tijekom alkoholne fermentacije u bačvi 143

Grafikon 5. Bačva 96 Saccharomyces

Grafikon 6. Bačva 135 Saccharomyces

Grafikon 7. Bačva 141 Ne – Saccharomyces

Grafikon 8. Bačva 143 Ne - Saccharomyces

PRILOZI

Tablica 4: Obrazac za organoleptičko ocjenjivanje mirnih vina metodom 100 bodova

Komisija br. _____

Ocjenjivač br. _____

Oznaka uzorka: _____

Vrsta proizvoda: _____

Sorta: _____

Berba: _____

Podrijetlo proizvodnje: _____

MIRNA VINA							
		Odlično	Vrlo dobro	Dobro	Prolazno	Loše	Primjedbe
IZGLED	Bistroća	5	4	3	2	1	
	Boja	10	8	6	4	2	
MIRIS	Čistoća	6	5	4	3	2	
	Intenzitet	8	7	6	4	2	
	Kvaliteta	16	14	12	10	8	
OKUS	Čistoća	6	5	4	3	2	
	Intenzitet	8	7	6	4	2	
	Trajnost	8	7	6	5	4	
	Kvaliteta	22	19	16	13	10	
Harmoničnost / Opći dojam		11	10	9	8	7	
Ukupno bodova							

Mjesto i datum:

Potpis ocjenjivača: