

Miličević, B.¹, Babić, J.^{1*}, Šubarić, D.¹, Petošić, E.², Đurđica Ačkar¹, Jasna Čačić³
znanstveni rad

Primjena fermentacije s imobiliziranim stanicama kvasca u proizvodnji vina iz različitih sorti grožđa kutjevačkih vinograda

Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi mogućnost proizvodnje vrhunskog vina upotrebom imobiliziranih stanica kvasca. Odabrano je devet dominantnih sorti grožđa unutar grupe preporučenih i dopuštenih sorti vinograda Kutjevo, koji se nalaze u istočnom dijelu kontinentalne Hrvatske.

Rezultati su pokazali da sorte Rizling rajnski i Graševina bijela mogu biti označene kao sorte pogodne za proizvodnju vina pomoću imobiliziranih stanica kvasca. One imaju potencijal za proizvodnju vina visoke kvalitete, čak pogodnih i za dulje sazrijevanje. Prema ovom istraživanju sorte Rizvanac bijeli, Pinot sivi, Pinot bijeli, Traminac crveni i Chardonnay daju značajno bolja vina klasičnim postupkom fermentacije, u odnosu na vina proizvedena postupkom s imobiliziranim stanicama kvasca, pa se stoga ovaj način ne preporuča u proizvodnji vina kod navedenih sorti.

Ključne riječi: imobilizirane stanice kvasca, aroma, sorte grožđa, kvaliteta vina

Uvod

Sastav arome važan je čimbenik u određivanju kvalitete kao i za potrošačku percepciju pri odabiru vina (Rapp i Mandery, 1986.; Etievant, 1991.; Pretorius i sur., 2003.). Većina važnih spojeva arome vina nastaju djelovanjem kvasaca tijekom alkoholne fermentacije (Rankine, 1967.; Nyakanen, 1986.; Antonelli i sur., 1999.; Herjavec i sur., 2003.). Nastanak hlapivih komponenti arome, kao što su viši alkoholi, aldehidi, esteri masnih kiselina, acetati, složen je proces koji uključuje brojne čimbenike (Aragon i sur., 1998.; Bertolini i sur., 1996.). Aroma vina ovisi o koncentraciji metabolita prisutnih u moštu na početku fermentacije, omjerima tih tvari koji se razlikuju od sorte do sorte grožđa, o sposobnosti kvasaca da ih metabolizira, kao i o tehnološkim karakteristikama samog procesa proizvodnje vina (Vila i sur., 1998.; Lambrechts i Pretorius, 2000.; Delfini i sur., 2001.).

Komercijalno odabrani autohtoni sojevi kvasaca u obliku inokuluma i danas se široko koriste. Brojna su istraživanja pokazala da vinski kvasci značajno utječu na sastav hlapivih

komponenti arome vina (Ramon-Portugal i sur., 1990.; Romano, 1997.). Određena istraživanja provedena su da bi se istražio utjecaj imobiliziranih stanica kvasca na proces fermentacije (Diviès i sur., 1994.; Yajima i Yokotsuka, 2001.; Mallouchos i sur., 2003.).

Tehnologija s imobiliziranim stanicama kvasca neprestano privlači pažnju u vinskoj industriji u posljednjih nekoliko godina. Razlozi za to su brojni, kao npr. brža fermentacija, povećan volumni prinos i mogućnost kontinuiranog rada (Fleet i Heard, 1993.; Frank i sur., 2011.).

Najnovija dostignuća u proizvodnji vina s imobiliziranim stanicama kvasca jasno pokazuju da upotrebom različitih reaktora i dizajna sustava mogu se postići mnogo bolji rezultati u pogledu kvalitete (Mallouchos i sur., 2003.). Sva ta rješenja su obećavajuća, ali još uvijek postoje brojni elementi za proučavanje. Stoga smo u ovom istraživanju proučili mogućnost proizvodnje kvalitetnih vina upotrebom imobiliziranih stanica kvasca na devet odabranih sorti grožđa, odabranih unutar grupe preporučenih i dopuštenih sorti vinograda Kutjevo, koji se nalaze u istočnom dijelu kontinentalne Hrvatske.

Materijali i metode

Proizvodnja vina

Vina su proizvedena od grožđa sljedećih sorti: *Graševina bijela*, *Pinot bijeli*, *Pinot sivi*, *Chardonnay*, *Rizling rajnski bijeli*, *Traminac crveni*, *Rizvanac bijeli*, *Frankovka crna* i *Ružica crvena*.

Uzorci vina (označeni od 1 do 9) proizvedeni su upotrebom klasičnog tehnološkog procesa: fermentacija sa selekcioniranim kvascima *Feromol-Bouquet 125*, uz kontrolirani temperaturni režim, vođen vanjskim hlađenjem fermentora pomoću rashladne vode, s ciljem održavanja prosječne temperaturu u intervalu od 20 do 25°C. Prosječno trajanje fermentacije za sve sorte grožđa pri ovim uvjetima bilo je 42 dana.

Uzorci označani kao 1*, 2*, 3*, 4*, 5*, 6*, 7*, 8* i 9* proizvedeni su upotrebom tehnološkog procesa kao što je prikazano na Slici 1.: fermentacija s imobiliziranim stanicama kvasca/ selekcionirani kvasci *Feromol-Bouquet 125*, imobilizirani u gelu Ca-alginata unutar fermentora sa strujanjem plina i kuglicama alginata na koje su vezane stanice kvasca, uz kontrolirani temperaturni režim vođen vanjskim hlađenjem fermentora pomoću rashladne vode, s ciljem održavanja prosječne temperaturu u intervalu od 20 do 25°C (Gaserod, 1998.; Poncelet i sur., 2001.). Prosječno trajanje fermentacije pri tim uvjetima bilo je 12 dana.

Uzorci mladog vina analizirani su na kraju fermentacije i prije filtracije.

¹ dr. sc. Borislav Miličević, dr. sc. Jurislav Babić*, dr. sc. Drago Šubarić, doc. dr. sc. Đurđica Ačkar, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, F. Kuhača 18, Osijek, Hrvatska

² Emil Petošić, Zvečevo d.d., Prehrambena industrija, Kralja Zvonimira 1, Požega, Hrvatska

³ mr. sc. Jasna Čačić, Gospodarsko-interesnog udruženja proizvođača pića Hrvatske, Kučerina 64, Zagreb, Hrvatska

Kemijska analiza vina

Kemijske analize vina uključuju određivanje specifične mase, alkohola, ukupnog ekstrakta, ukupnih šećera, ukupnih kiselina, ukupnog i slobodnog SO₂, ukupnog dušika i analizu pepela prema AOAC, 1995.

Analiza arome

Analiza arome uzoraka provedena je na Hewlett Packard 5890 plinskom kromatografu sa split/splitless injektorom i FID detektorom. Za headspace analizu vina korišten je Hewlett Packard sampler. Željene komponente razdvojene su na Stabilwax (Restec, USA) kapilarnoj koloni (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) uz sljedeće parametre: početna temperatura pećnice 30°C zadržana je 4 min, zatim je povećavana brzinom 10°C/min do 100°C, a potom brzinom 25 °C/min do 250°C, a zatim na 250°C zadržana u trajanju od 7 min. Temperatura priključka injektora održavana je na 180°C, tlak je bio 20 psi, a protok plina nositelja (dušik) bio je 3 mL/min. Temperatura detektora bila je 250°C.

Headspace uređaj za uzorkovanje opremljen je standardnom loop-om od 1mL. Tlak plina nositelja bio je 17 psi, tlak u bočici 7 psi, a vrijeme injektiranja 0,20 min. Uzorci su zagrijani na 100°C tijekom 10 min. Za analizu destilata vina korištena je Stabilwax (Restec, USA) kapilarna kolona (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm), početna temperatura pećnice od 35°C zadržana je 7 min, zatim je povećavana brzinom 10 °C/min do 80°C, a potom brzinom 25°C/min do 200°C te je na 200°C zadržana 4 min. Kvantitativni podaci dobiveni su upotrebom n-amil alkohola kao internog standarda. Kvalitativna je analiza provedena kombinacijom GC/MS sa Stabilwax (Restec, USA) kapilarnom kolonom uz usporedbu masenih spektara i vremena zadržavanja (RI) s referentnim tvarima.

Senzorsko ocjenjivanje

Senzorsko ocjenjivanje uzoraka vina provedeno je pomoću *Buxbaum* modela pozitivnih ocjena (Buxbaum, 1951.). Taj se model temelji na četiri senzorska svojstva (boja, bistroća, miris, okus) uz maksimalno 20 bodova. Ocjenjivački panel od 10 treniranih ocjenjivača napravio je sva ocjenjivanja. Statističke razlike među rezultatima za vina određena su primjenom standardne obrade podataka pomoću Microsoft Excel programa.

Rezultati i rasprava

Kemijska analiza vina

U Tablici 1. i Tablici 2. prikazani su rezultati fizikalno-kemijskih analiza nefiltriranih uzoraka vina. Dobiveni rezultati pokazuju da su svi uzorci vina proizvedeni fermentacijom s imobiliziranim stanicama kvasca (prikazano na Slici 1.) imali malo viši sadržaja alkohola u rasponu od 10,02 – 12,70%, u odnosu na sadržaj od 9,53 - 12,00% kod vina proizvedenih klasičnim tehnološkim procesom. Količina alkohola odgovara Pravilniku o vinu (Anonimus, 1996.). Stoga je važno naglasiti da povećanje količine alkohola u vinima može uzrokovati smanjenje aromatskih spojeva (Escalona i sur., 1999.).

Tablica 1. Rezultati kemijske analize tradicionalno proizvedenih vina.

	<i>Graševina bijela</i>	<i>Pinot bijeli</i>	<i>Pinot sivi</i>	<i>Chardonnay</i>	<i>Rizling rajnski bijeli</i>	<i>Traminac crveni</i>	<i>Rizvanac bijeli</i>	<i>Frankovka crna</i>	<i>Ružica crvena</i>
Specifična masa (20/20 °C) (g/mL)	0,9935	0,9911	0,9914	0,9918	0,9932	0,9940	0,9903	0,9950	0,9923
Alkohol (%vol.)	12,00	10,02	11,40	11,07	11,64	11,08	9,53	11,76	11,70
Ukupni ekstrakt (g/L)	22,5	19,60	19,30	20,10	22,06	20,80	19,28	24,62	19,00
Ukupni šećeri (g/L)	3,30	2,45	2,63	3,73	3,20	3,70	2,60	3,20	7,30
Ukupna kiselost (g/L)	5,98	5,30	5,21	6,49	6,09	4,99	5,68	6,18	4,96
Pepeo (g/L)	1,98	1,64	1,74	1,42	1,80	1,90	1,42	2,10	1,80
Slobodni SO ₂ (mg/L)	23,20	7,24	7,04	17,09	7,00	21,76	16,20	6,90	6,60
Ukupni SO ₂ (mg/L)	155,36	119,55	118,40	125,25	119,00	149,76	124,33	115,60	115,33
Ukupni dušik (mg/L)	240,30	260,50	260,00	260,00	245,30	249,00	245,20	240,50	120,00

*- svi rezultati su srednja vrijednost tri mjerenja

Tablica 2. Rezultati kemijske analize vina proizvedenih s imobiliziranim stanicama kvasca.

	<i>Graševina bijela</i>	<i>Pinot bijeli</i>	<i>Pinot sivi</i>	<i>Chardonnay</i>	<i>Rizling rajnski bijeli</i>	<i>Traminac crveni</i>	<i>Rizvanac bijeli</i>	<i>Frankovka crna</i>	<i>Ružica crvena</i>
Specifična masa (20/20 °C) (g/mL)	0,9925	0,9901	0,9907	0,9911	0,9922	0,9930	0,9900	0,9940	0,9912
Alkohol (%vol.)	12,64	10,62	11,47	11,37	11,84	11,38	10,02	12,70	11,93
Ukupni ekstrakt (g/L)	21,57	19,10	19,14	20,06	22,01	20,12	19,03	24,10	18,07
Ukupni šećeri (g/L)	1,32	1,45	1,64	1,74	1,20	1,70	1,69	1,27	3,39
Ukupna kiselost (g/L)	5,73	5,00	4,10	5,18	5,01	4,15	5,10	5,68	4,08
Pepeo (g/L)	1,96	1,62	1,70	1,32	1,70	1,80	1,40	2,00	1,70
Slobodni SO ₂ (mg/L)	23,02	7,20	7,14	17,00	7,30	21,26	16,40	6,10	6,30
Ukupni SO ₂ (mg/L)	153,33	118,52	118,20	124,21	119,30	149,96	124,83	115,44	115,66
Ukupni dušik (mg/L)	230,00	260,00	249,00	259,90	244,00	247,00	243,80	239,10	119,60

*- svi rezultati su srednja vrijednost tri mjerenja

Kvalitativni fizikalno-kemijski profili vina proizvedenih s imobiliziranim stanicama bili su slični u većini uzoraka. Imobilizirane stanice dale su vina s nižim sadržajem ukupnog ekstrakta (18,07 - 24,10 g/L). Sadržaj ukupnog ekstrakta u svim vinima proizvedenim pomoću klasičnog tehnološkog postupka bio je unutar preporučenih vrijednosti, 19,00 - 24,62 g/L (Anonimus, 1996.). Važno je naglasiti da su tvari zamućenja, osobito stanice kvasca (60-70% ukupnog taloga), pridonijele povišenju sadržaja ukupnog ekstrakta. Razlike u sadržaju ukupnog ekstrakta u uzorcima vina u skladu su s karakteristikama kvalitetnih vina dobivenih u ispitivanim sortama grožđa (Ribereau-Gayon i sur., 1998.; Rapp, 1990.; Muštović, 1985.).

Nešto niži sadržaj ukupnih kiselina zabilježen je u uzorcima vina proizvedenih imobiliziranim stanicama kvasca (4,08 – 5,73 g/L), u odnosu na vina proizvedena klasičnim tehnološkim postupkom (4,96 – 6,49 g/L). Slične rezultate dobili su Romano, 1997.; Yajima i Yokotsuka, 2001.; Mallouchos i sur., 2003.

Sadržaj ukupnih šećera (2,45 – 7,30 g/L) bio je značajno veći u svim vinima proizvedenim klasičnim postupkom, u odnosu na sadržaj u vinima proizvedenim pomoću imobiliziranih stanica kvasca (1,20 - 3,39 g/L).

Prisutnost slobodnog SO₂ u svim uzorcima vina kreće se u rasponu 6,10 – 23,20 mg/L, što je u skladu s rezultatima koji su dobili Antonelli i sur., 1999.

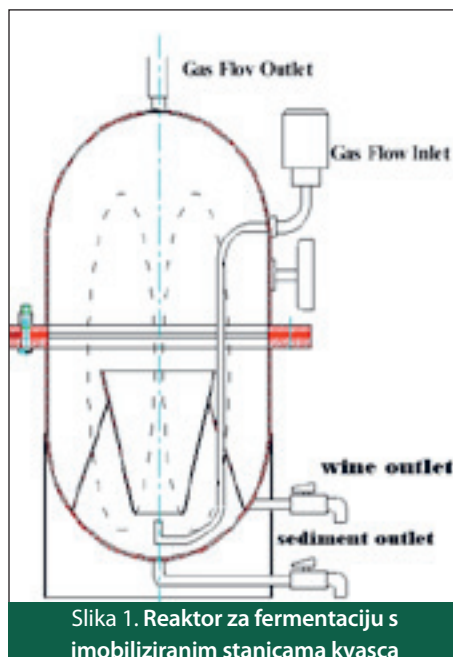
Prema dobivenoj analizi vina, utvrđeno je da postoje značajne razlike među određenim svojstvima. Utvrđene fizikalno-kemijske karakteristike proizvedenih vina bile su unutar referentnih vrijednosti (Romano, 1997.; Vila i sur., 1998.). Na osnovi kemijskih svojstava prikazanih u Tablici 1. može se utvrditi da su uzorci vina proizvedeni od sorti *Rizling rajnski bijeli*, *Rizvanac bijeli* i *Graševina bijela* prikladni za proizvodnju vina upotrebom tehnološkog procesa s imobiliziranim stanicama kvasca.

Svi podaci fizikalno-kemijskih analiza odgovaraju zahtjevima prema hrvatskom zakonu (Anonimus, 1996.).

Senzorska analiza

Tablica 3. **Senzorska analiza tradicionalno proizvedenih vina - Buxbaum model.**

Statistički podaci	Uzorak vina								
	Graševina bijela	Pinot bijeli	Pinot sivi	Chardonnay	Rizling rajnski bijeli	Traminac crveni	Rizvanac bijeli	Frankovka crna	Ružica crvena
Min.	14,50	14,40	13,90	14,50	14,70	14,20	14,50	14,50	13,00
Max.	15,50	14,80	15,50	15,40	16,00	15,30	15,40	15,40	14,40
Srednja vrijednost	15,30	14,59	14,67	15,26	15,39	14,80	14,90	14,95	13,90
Median	15,30	14,60	14,85	15,30	15,50	15,00	14,90	15,00	14,00
SD	0,36	0,11	0,54	0,37	0,59	0,30	0,20	0,22	0,36



Slika 1. Reaktor za fermentaciju s imobiliziranim stanicama kvasca

Razultati senzorske analize vina prikazani su u Tablici 3. i Tablici 4. Senzorska analiza je provedena na novim nefiltriranim vinima, iz kojih su grube čestice mutnoće uklonjene prirodnim postupkom sedimentacije. Stoga su sva vina blago zamućena, što je u skladu s *Buxbaum* modelom negativno svojstvo. Ipak, u ovom slučaju bistroća svih uzoraka bila je ocijenjena s 0 bodova.

Tablica 4. **Senzorska analiza vina proizvedenih s imobiliziranim stanicama kvasca - Buxbaum model.**

Statistički podaci	Uzorak vina								
	Graševina bijela	Pinot bijeli	Pinot sivi	Chardonnay	Rizling rajnski bijeli	Traminac crveni	Rizvanac bijeli	Frankovka crna	Ružica crvena
Min.	14,70	14,40	13,80	14,50	14,50	14,20	14,60	14,50	13,00
Max.	16,00	14,78	15,50	15,60	15,50	15,30	15,40	15,30	14,40
Srednja vrijednost	15,39	14,48	14,60	15,16	15,19	14,95	15,02	14,98	13,90
Median	15,40	14,50	14,75	15,30	15,30	15,00	15,00	15,00	14,00
SD	0,49	0,12	0,50	0,37	0,36	0,31	0,30	0,21	0,35

Rezultati pokazuju da su vina imala dobra senzorska svojstva i da su ocjene vrlo slične za istu sortu grožđa, a različit postupak proizvodnje. Međutim, analiza višestrukog raspona pokazala je značajne (P<0.05) razlike među vinima. Uzorak vina *Ružica crvena* dobio je najlošiju ocjenu, dok najbolje ocijenjen uzorak vina *Graševina bijela* izdvaja tu sortu kao jednu od najboljih za proizvodnju vina pomoću imobiliziranih stanica kvasca, što je u skladu i s rezultatima fizikalno-kemijskih analiza.

Analiza hlapivih sastojaka

U oba uzorka vina (proizvedeni klasičnim postupkom fermentacije i uzorci proizvedeni s imobiliziranim stanicama kvasca) tvari arome su identificirane i kvantitativno određene te prikazane u Tablici 5. i Tablici 6.

Sadržaj metanola u uzorcima proizvedenim postupkom s imobiliziranim stanicama kvasca bio je vrlo nizak (0,08 – 0,28 mg/L) u usporedbi s rezultatima dobivenim u istraživanjima Gnekow i Ough, 1976.

Sadržaj acetaldehida u vinima proizvedenim tradicionalnim postupkom kretao se od 40,96 do 130,71 mg/L (Tablica 5.) te od 0 do 30,77 mg/L u vinima proizvedenim s imobiliziranim stanicama kvasca (Tablica 6.). Acetaldehid je uobičajeni proizvod alkoholne fermentacije i njegov udio u vinu, prema literaturnim podacima, obično se kreće od 10 do 300 mg/L (Fleet i Heard, 1993.). Povećanje sadržaja acetaldehida u bijelom vinu znak je oksidacije vina.

Tablica 5. Sastojci arome u tradicionalno proizvedenim uzorcima vina (mg/L).

Sastojak arome (mg/L)	Graševina bijela	Pinot bijeli	Pinot sivi	Chardonnay	Rizling rajnski bijeli	Traminac crveni	Rizvanac bijeli	Frankovka crna	Ružica crvena
Metanol	0,14	0,17	0,23	0,19	0,16	0,18	0,28	0,36	0,33
Linalol	0,99	0,79	1,16	0,89	0,79	1,11	1,34	1,18	0,33
1-propanol	20,57	9,97	28,11	18,95	17,11	20,13	9,85	8,64	13,42
Isobutanol	43,17	24,63	31,35	26,68	42,71	33,52	29,9	30,57	61,64
1-butanol	0,65	nd	0,85	0,55	0,01	0,73	0,49	0,72	0,58
Isoamil alkohol	199,36	168,99	133,08	155,55	219,99	163,88	179,99	389,23	128,23
2-fenil etanol	32,04	17,15	43,37	55,42	35,74	15,71	38,82	38,63	53,60
1-hexanol	7,42	3,98	4,99	5,71	7,01	5,81	5,36	5,62	7,33
Acetaldehid	42,30	40,96	130,71	109,51	50,57	44,31	55,69	41,32	42,28
Etil acetat	54,51	62,82	75,53	59,81	54,73	94,79	88,45	82,27	98,43
Isoamil acetat	2,74	1,22	2,45	1,82	1,29	3,12	1,68	0,01	1,56
Etil hexanoat	0,95	0,01	0,76	nd	nd	0,32	nd	0,01	nd
Etil oktanoat	0,01	1,50	3,66	0,53	0,52	1,93	1,02	nd	1,04
Etil dekanoat	1,33	0,42	0,88	0,23	0,37	0,18	0,11	0,01	0,20
Etil laktat	3,86	2,69	5,98	8,74	nd	0,01	0,02	2,33	3,09

nd – ne detektirano

Tablica 6. Sastojci arome u uzorcima vina proizvedenim s imobiliziranim stanicama kvasca (mg/L).

Sastojak arome (mg/L)	Graševina bijela	Pinot bijeli	Pinot sivi	Chardonnay	Rizling rajnski bijeli	Traminac crveni	Rizvanac bijeli	Frankovka crna	Ružica crvena
Metanol	0,08	0,17	0,21	0,19	0,11	0,16	0,23	0,28	0,26
Linalol	0,98	0,70	0,96	0,87	0,63	0,93	0,94	0,88	0,13
1-propanol	20,56	9,96	28,09	18,90	17,10	20,13	9,83	8,60	13,40
Isobutanol	43,16	24,63	31,35	26,68	42,71	33,52	29,9	30,50	61,60
1-butanol	0,65	0,01	0,87	0,54	nd	0,72	0,47	0,72	0,55
Isoamil alkohol	190,23	163,29	129,03	115,55	211,47	161,37	177,95	389,23	118,33
2-fenil etanol	32,00	17,10	43,32	55,40	35,70	15,65	38,72	38,53	53,50
1-hexanol	5,22	2,93	2,92	1,71	5,01	3,81	2,36	2,65	3,36
Acetaldehid	22,33	10,66	30,77	19,51	30,57	24,31	15,69	nd	22,25
Etil acetat	41,11	22,02	45,33	32,85	24,78	42,73	21,44	12,27	28,47
Isoamil acetat	2,70	1,20	2,40	1,72	1,26	3,10	1,60	nd	1,54
Etil hexanoat	0,95	nd	0,75	nd	nd	0,32	nd	nd	nd
Etil oktanoat	nd	1,50	3,65	0,50	0,50	1,91	1,01	nd	1,01
Etil dekanoat	1,32	0,40	0,88	0,22	0,36	0,18	0,11	nd	0,20
Etil laktat	3,85	2,66	5,96	8,70	nd	nd	nd	2,33	3,06

nd – nedetektirano

Iz kromatografske analize vina može se vidjeti da su od viših alkohola identificirani 1-propanol, 1-butanol, isobutil alkohol, 1-hexanol, isoamil alkohol i 2-fenil etanol te da su 1-propanol, 1-butanol i isobutil alkohol imali visok prag osjetljivosti te na taj način ne utječu znatno na aromu vina (Lambrechts i Pretorius, 2000.). Sadržaj 1-hexanola u vinima proizvedenim postupkom s imobiliziranim stanicama kvasca bio je također ispod praga osjetljivosti, osim u uzorku vina *Graševina bijela*, gdje je sadržaj iznosio 5,22 mg/L.

Isoamil alkohol najvažniji je alifatski alkohol koji sintetizira kvasac tijekom alkoholne fermentacije. On čini gotovo 70% od ukupne frakcije viših alkohola. Sadržaj isoamil alkohola u vinima proizvedenim s imobiliziranim stanicama kvasca kreće se u rasponu od 115,55 do 389,23 mg/L, što je u skladu s istraživanjem od Rapp i Mandery (1986.), gdje je utvrđeni sadržaj isoamil alkohola u vinu bio 45 - 490 mg/L. Viši alkoholi imaju blagotvoran učinak na kompleksnost vina, ako ne prelaze iznos od 300 mg/L (Rapp i Mandery, 1986.).

Sadržaj esterskih spojeva i njihov sastav utječe na senzorska svojstva vina, dajući mu svježju voćnu aromu (Etievant, 1991.). Najvažniji acetatni esteri u vinu su etil acetat i isoamil acetat. Sadržaj etil acetata u vinu proizvedenom s imobiliziranim stanicama kvasca bio je u rasponu od 12,27 do 45,33 mg/L, što odgovara literaturnim podacima (Lambrechts i Pretorius, 2000.), prema kojima se sadržaj etil acetata kreće u rasponu od 30 do 200 mg/L sa senzorskim pragom osjetljivosti od 17 mg/L. Svi ostali esteri u granicama su optimalnih vrijednosti, osim u uzorcima vina *Graševina bijela* i *Chardonnay*, gdje je sadržaj etil laktata blago povećan u usporedbi s literaturnim podacima (Wondra i Berovič, 2001.; Nykanen i Suomalainen, 1983.).

Linalol je spoj iz skupine terpena, koji se ne mijenjaju tijekom alkoholne fermentacije te su stoga pogodni za karakterizaciju sorti grožđa (Rapp, 1990.). Sadržaj linalola kretao se od 0,33 do 1,34 mg/L u tradicionalno proizvedenim vinima te od 0,13 do 0,98 mg/L u vinima proizvedenim s imobiliziranim stanicama kvasca, što u potpunosti odgovara osobinama sorti grožđa (Lopez i sur. 1999., Guarrera i sur. 1999.).

Iz rezultata analize arome vidljivo je da primjena procesa vinifikacije osigurava visoku kvalitetu vina. Međutim, uzorci vina proizvedeni s imobiliziranim stanicama kvasca nisu vrhunske kvalitete, osim uzoraka vina *Graševina bijela* i *Rizling rajnski*.

Zaključak

Kontinentalna regija u Republici Hrvatskoj područje je poznato po proizvodnji kvalitetnih vina, a istraživanja u ovom radu pokazuju da se od određenih sorti grožđa, uz pravilnu primjenu postupka fermentacije s imobiliziranim stanicama kvasca, mogu proizvesti kvalitetna vina. Sorte grožđa *Rizling rajnski* i *Graševina bijela* mogu se izdvojiti za proizvodnju kvalitetnih vina, pogodnih za duže sazrijevanje.

Prema ovom istraživanju, sorte *Rizvanac bijeli*, *Pinot sivi*, *Pinot bijeli*, *Traminac crveni* i

Chardonnay daju značajno bolja vina klasičnim procesom fermentacije, u odnosu na vina proizvedena procesom s imobiliziranim stanicama kvasca te se stoga ne preporučuje koristiti te sorte u proizvodnji vina s imobiliziranim stanicama kvasca.

Literatura

- AOAC** (1995.). Official Methods of Analysis. Association of Official Chemists, Arlington, VA, USA.
- Anonymous** (1996. i 2000.). Pravilnik o vinu. Službeni list RH, broj 96 and 57. Narodne novine. Zagreb. Croatia (Regulations of wine. 1996 and 2000. Official Gazette of Republic of Croatia. no. 96 and 57. Official Gazette. Zagreb. Croatia.)
- Antonelli, A., Castellari, L., Zambonelli, C., Carnacini, A.** (1999.). Yeast influence on volatile composition of wines. *J. Agric. Food Chem.* 47:1139–1144.
- Aragon, P., Atienza, J., Climent, M.D.** (1998.). Influence of clarification, yeast type and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of Malvasia and Muscatel wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 2:211.
- Bertolini, L., Zambonelli, C., Giudici, P., Castellari, L.** (1996.). Higher alcohol production by cryotolerant *Saccharomyces* strains. *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 334.
- Buxbaum, W.** (1951.): *Deut Weinbau* 5: 596-597
- Delfini, C., Cocito, Ch., Bonino, M., Schellino, R., Gaia, P., Baiocchi, C.** (2001.). Definitive evidence for the actual contribution of yeast in the transformation of neutral precursors of grape aromas. *J. Agric. Food Chem.* 48:1789–1798.
- Diviès, C., Cachon, R., Cavin, J-F., Prévost, H.** (1994.). Immobilized Cell Technology in Wine Production. *Crit. Rev. Biotech.* 14(2): 135-153.
- Escalona, H., Piggott, J.R., Conner, J.M., Paterson, A.** (1999.). Effect of ethanol strength on the volatility of higher alcohols and aldehydes. *Ital. J. Food Sci.* 11:241.
- Etievant, P.X.** (1991.). Wine. in Volatile compounds in foods and beverages. Marcel Dekker Inc. New York, USA.
- Fleet, G.H., Heard, G.M.** (1993.). Yeasts: growth during fermentation. In: Wine microbiology and biotechnology. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
- Frank, S., Wollmann, N., Schieberle, P., Hofmann, T.** (2011.). Reconstitution of the flavor signature of Dornfelder red wine on the basis of the natural concentrations of its key aroma and taste compounds. *J. Agric. Food Chem.* 59:8866-8874.
- Gaserod, O.** (1998.). Microcapsules of alginate chitosan: A study of capsule formation and functional properties, Phd thesis, NTNU Trondheim
- Gnekow, B., Ough, C.S.** (1976.). Methanol in wines and musts: source and amounts. *Am. J. Enol. Vitic.* 27:1-6
- Guarrera, N., Campisi, S., Asmundo, C.N.** (1999.). Identification of the odorants of two Passito wines by gas chromatography-olfactometry and sensory analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:394-399.
- Herjavec, S., Podgorski, V., Redžepović, S., Mirošević, N.** (2003.). The Influence of Some Commercial *Saccharomyces cerevisiae* Strains on the Chardonnay Wines, *Food Technol. Biotechnol.* 41:77–81.
- Lambrechts, M.G., Pretorius, I.S.** (2000.). Yeast and its Importance to Wine aroma – a review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 200:21-97
- López, R., Ferreira, V., Hernández, P., Cacho, J.F.** (1999.). Identification of impact odorants of young red wines made with Merlot, Cabernet Sauvignon and Grenache varieties: a comparative study. *J. Sci. Food Agric.* 79:1461-1467.
- Mallouchos, A., Skandamis, P., Loukatos, P., Komaitis, M., Koutinas, A., Kanellaki, M.** (2003.). Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins. *J. Agric. Food Chem.* 51(10):3060-3066.
- Montgomery, D.C.** (1984.). Design and analysis of experiment (2nd ed). John Wiley and Sons. New York, USA.

- Muštović, S.** (1985.). Vinarstvo sa enohemijom i mikrobiologijom. Privredni pregled. Beograd, Yu.
- Nykanen, L., Suomalainen, H.** (1983.). Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages. Akademie verlag, Berlin, Deutschland.
- Nykänen, L.** (1986.). Formation and occurrence of flavour compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37:84-96.
- Poncellet, D., Dulieu, C. Jacquot, M.** (2001.). Description of the immobilization procedures, in: Immobilized Cells, (Wijffels R.), Springer Lab Manual, Heidelberg, p.p. 15-30.
- Pretorius, I.S., Toit, M., Rensburg, P.** (2003.). Designer Yeasts for the Fermentation Industry of the 21st Century. *Food Technol. Biotechnol.* 41:3–10.
- Ramon-Portugal, F., Seiller, I., Taillandier, P., Favarel, J.L., Nepreu, F. Strehaiano, P.** (1990.). Kinetics of production and consumption of organic acids during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technol. Biotechnol.* 4:235.
- Rankine, B.C.** (1967.). Formation of higher alcohols by wine yeasts and relationship to taste threshold. *J. Sci. Food Agric.*, 18:583-589
- Rapp, A., Mandery, H.** (1986.). Wine aroma. *Experientia* 42:873
- Rapp, A.** (1990.). Natural flavours of wine, correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Fresenius J. Anal. Chem.* 337:777.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubordieu, D.** (1998.). Traité d'Oenologie 2. Chimie du Vin. Stabilisation et Traitements. Pariz: Dunod.
- Romano, P.** (1997.). Metabolic characteristic of wine strains during spontaneous and inoculated fermentation. *Food Technol Biotechnol.* 35:255 – 260.
- Yajima, M., Yokotsuka, K.** (2001.). Volatile Compound Formation in White Wines Fermented Using Immobilized and Free Yeast. *Am. J. Enol. Vitic.* 52(3):210-218.
- Vila, I., Sablayrolles, J., Baumes, R., Barre, P.** (1998.). Study of influence of yeast strain on fermentation aroma by sensory and chemical analyses. *Vitic Enol Sci*, 53:124 – 130.
- Wondra, M., Berovič, M.** (2001.). Analyses of aroma components of Chardonnay wine fermented by different yeast strains. *Food Technol. Biotechnol.* 2:141.

scientific study

Applying fermentation using immobilized yeast cells in producing wine of different grape varieties from Kutjevo vineyards

Summary

The goal of this paper was to determine the possibility of producing wine of exquisite quality using immobilized yeast cells. There were chosen nine dominant grape varieties within the group of recommended and allowed varieties of Kutjevo vineyard, which is located in the eastern part of continental Croatia.

The results have shown that varieties Rizling rajnski and Graševina bijela can be designated as varieties suitable for the production of wine using immobilized yeast cells. They have a potential for the production of high quality wines, suitable even for a longer maturation. According to this research, varieties Rizvanac bijeli, Pinot sivi, Pinot bijeli, Traminac crveni and Chardonnay give significantly better wines by a traditional procedure of fermentation in comparison to wines produced by the procedure with immobilized yeast cells. Therefore this way is not recommended in wine production with the listed varieties.

Keywords: immobilized yeast cells, aroma, grape varieties, wine quality