



УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ - ШТИП

ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ

КАТЕДРА ЗА ПРЕХРАНБЕНА ТЕХНОЛОГИЈА И ПРЕРАБОТКА НА
АНИМАЛНИ ПРОИЗВОДИ

Кире Петров

**ВЛИЈАНИЕ НА АВТОХТОНИ И КОМЕРЦИЈАЛНИ СОЕВИ КВАСЦИ
ПРИ ПРОИЗВОДСТВО НА ЦРВЕНО ВИНО ОД СОРТИТЕ ВРАНЕЦ
И КАБЕРНЕ СОВИЊОН ВО ТИКВЕШКОТО ВИНОГОРЈЕ**

МАГИСТЕРСКИ ТРУД

Штип, февруари 2019

Комисија за оценка и одбрана:

Ментор: проф. д-р Фиданка Илиева, доцент

Земјоделски факултет, Универзитет „Гоце Делчев“ Штип

Член: проф. д-р Виолета Димовска, редовен професор

Земјоделски факултет, Универзитет „Гоце Делчев“ Штип

Член: проф. д-р Сања Костадиновиќ Величковска, вонреден професор

Земјоделски факултет, Универзитет „Гоце Делчев“ Штип

Во оваа прилика особена благодарност би сакал да изразам кон сите оние кои со сопствените научни сознанија, практичните искуства, сугестии и моралната поддршка придонесоа за оформување на овој труд.

Најпрво, би сакал да се заблагодарам на мојот ментор, проф. д-р Фиданка Илиева, која и покрај своите обврски, ми помогна во текот на истражувањата и изработката на трудот.

Голема благодарност изразувам на Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип и на ректорот проф. д-р Блажо Боев, на Земјоделскиот факултет при Универзитетот „Гоце Делчев“ како и на деканот, проф. д-р Љупчо Михајлов.

На моите најблиски им ја должам најголемата благодарност за потребната морална поддршка што ми ја пружија во текот на студирањето на последипломските студии.

Кире Петров

Објавени научни трудови

1. Petrov, Kire and Ilieva, Fidanka and Dimovska, Violeta and Gunova, Natasa (2017) *Correlation between indigenous and commercial strains of yeast in the production of wine from the grape variety Vranec*In: VIII International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2017", 05-08 Oct 2017, Jahorina, Bosnia and Hercegovina.

ВЛИЈАНИЕ НА АВТОХТОНИ И КОМЕРЦИЈАЛНИ СОЕВИ КВАСЦИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВО НА ЦРВЕНО ВИНО ОД СОРТИТЕ ВРАНЕЦ И КАБЕРНЕ СОВИЊОН ВО ТИКВЕШКОТО ВИНОГОРЈЕ

Краток извадок

Микробиологијата е наука која ги проучува морфологијата, физиологијата, генетиката и екологијата на малите организми - микроорганизми, како и нивната улога и значење во животот на човекот и животната средина. Микроорганизмите учествуваат во трансформацијата на материите, а процесите кои ги предизвикуваат се познати уште многу одамна.

Улогата на квасците во процесот на трансформација на гроздовиот сок во вино е разработена уште во втората половина на 19 век, кога спроведените истражувања на Луј Пастер наведуваат на тоа дека алкохолната ферментација се одвива со помош на мали, живи организми, а не дека всушност се одвиваат само „безживотни“ хемиски реакции.

Како древна традиција, со текот на годините, во производството на вино се врши спонтаната ферментација на гроздовиот сок со учество на дивите квасци, кои припаѓаат на различни родови и видови. Бројот, видовите и нивното присуство во процесот на ферментација зависи од неколку фактори: најмногу од квалитетот на грозјето, конкретниот регион, климатски услови во годината на бербата, што доведува до непредвидливост на резултатите при спонтаната ферментација. Често оваа ферментација доведува до влошување органолептиката на виното - резултат на несакани процеси, малолактична или оцетнокисела ферментација и др., што укажува на потребата од користење на чисти култури квасци при производството на вино.

Во средината на 60-тите години на 20-тиот век на пазарот се појавуваат првите производи активни селектирани квасци, кои се добро прифатени од страна на производителите на вино.

Во денешно време во производството на вино се користат претежно чисти култури селектирани вински квасци, што доведе до значителен напредок на технолошко ниво, поради голем број на предности: способност за брза и ефикасна ферментација на гроздова каша или шира со висока

концентрација на шеќери, отпорност на висока концентрација на етанол и SO₂, отпорност на високи температури за време на ферментација.

Сè почестата употреба на комерцијални производи – селектирани видови квасци при производство на вино доведува до губење на автохтоните, локални за даден регион популации на квасци.

Во последниве години, постои поголем интерес кај научниците и производителите на вино за автохтони соеви квасци. По извршената селекција на автохтони соеви квасци со добри карактеристики, истите можат успешно да се користат во производството на вино. Со тоа би се подобрил биодиверзитетот во дадена област, би се збогатило биолошкото наследство, што е од суштинско значење за производство на вина со контролирано потекло, со типичен вкус и арома.

Клучни зборови: автохтони и комерцијални квасци, вино, селекција, алкохолна ферментација.

INFLUENCE OF INDIGENOUS AND COMMERCIAL STRAIN YEASTS FOR PRODUCTION OF RED WINE FROM GRAPE VARIETYS VRANEC AND CABERNET SAUVIGNON IN TIKVES WINE REGION

Abstract

Microbiology is a science that studies the morphology, physiology, genetics and ecology of small organisms - microorganisms, as well as their role and meaning in human and environmental life. Microorganisms participate in the transformation of matter, and the processes that cause them are known for a long time.

The role of yeasts in the process of transformation of grape juice into wine has been elaborated in the second half of the 19th century, when the research carried out by Louis Pasteur suggests that alcohol fermentation takes place with the help of small, living organisms, rather than actually taking place only "lifeless" chemical reactions.

As an ancient tradition, over the years, wine production has spontaneous fermentation of grape juice with the participation of wild yeasts, which belong to different genera and species. The number, species and their presence in the fermentation process depends on several factors: most of the quality of grapes, the specific region, climatic conditions in the harvest year, which leads to unpredictability of the results in spontaneous fermentation. Often this fermentation leads to deterioration of the organoleptic of the wine - the result of unwanted processes, malolactic or acetic acid fermentation, etc., which indicates the need to use pure yeast cultures in the production of wine.

In the mid-60s of the 20th century on the market appear the first products active selective yeasts, which are well accepted by wine producers.

Nowadays wine production uses mostly pure cultures of selected yeasts, which has led to significant technological progress, due to a number of advantages: ability for quick and efficient fermentation of grape pulp or must with high concentration of sugars, resistance to high concentration of ethanol and SO₂, resistance to high temperatures during fermentation.

Increasing use of commercial products - selected types of yeasts in wine production leads to the loss of autochthonous, local for a given region of yeast populations.

In recent years, there has been a growing interest among scientists and wine producers for autochthonous strains of yeasts. After the selection of autochthonous strains of yeasts with good characteristics, they can be successfully used in the production of wine. This would improve biodiversity in a given area, enrich the biological heritage, which is essential for the production of wines of controlled origin, with typical taste and aroma.

Keywords: autochthonous and commercial yeasts, wine, selection, alcohol fermentation.

Содржина:

1. ВОВЕД.....	10
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	12
2.1. Алкохолна ферментација	12
2.2. Квасци	15
2.2.1. Морфолошки карактеристики и својства на квасец.....	16
2.2.2. Комерцијални квасци	17
2.2.3. Влијанието на факторите на животната средина врз развојот и метаболизмот на квасецот.....	19
2.2.4. Влијание на метаболизмот на квасецот врз составот и органолептичкиот профил на виното	35
2.2.5. Селекција на квасци	42
3. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕ	48
4. МЕТОДИ НА ИСТРАЖУВАЧКАТА РАБОТА.....	49
4.1. Полски испитувања	50
4.2. Лабораториски испитувања.....	51
4.3. Статистичка обработка на податоците.....	52
4.3.1. Пирсонов коефициент на корелација	53
5. РЕЗУЛТАТИ	54
5.1. Динамика на алкохолната ферментација.....	56
5.2. Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз виното произведено од сортата на грозје Вранец	60
5.3. Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз виното произведено од сортата на грозје Каберне Совињон	62

5.4 Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз полифенолите, антоцијаните и интензитетот на боја на вина од сортите Вранец и Каберне Совињон	65
5.5. Статистичка обработка на резултати	70
5.6. Дескриптивна статистика.....	73
5.7. Хемиски карактеристики на виното од сортата на грозје Вранец и Каберне Совињон во текот на 2017 година.....	79
6. ДИСКУСИЈА.....	83
7. ЗАКЛУЧОК.....	86
8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА:.....	89

1. ВОВЕД

Микробиологијата на вино е дел од технолошката, поконкретно дел од прехранбената микробиологија. Како предмет на проучување за оваа микробиологија се микроорганизмите кои можат да се развиваат во суровините, помошните материјали, полуготови и готови производи во винарската индустрија.

Ферментацијата е суштина на процесот на производство на виното. Целта на овој вкупен процес е да се претвори шеќерот во етанол, на начин на кој ќе се произведат минимум несакани споредни производи, со максимално зачувување на природната арома и мирис на грозјето, што ќе придонесе максимално да се зајакне единствената карактеристика на ферментираниот алкохолен пијалак-вино.

Добивањето на ферментациски производи и нивната употреба е застапена кај човекот од најдлабока древност.

Квасците се најчесто присутни микроорганизми при преработка на грозје и производство на вино. Тие имаат големо значење во винопроизводството, поради примената на селектираните соеви за спроведување на ферментација, но и како причинители на болести на виното. Од 350 видови квасци кај грозјето, во гроздовата каша која ферментира и во вината се откриени 60-70 видови. Некои од нив (кои се изолирани) можат да се сметат како некарактеристични за таа средина, а останатите се редовни или често присутни во гроздовиот сок и вината. Поради тоа овие квасци се нарекуваат вински квасци (Каров, И., Илиева, Ф., 2014).

При производството на различни типови вина се употребуваат специјални одбрани соеви квасци, кои имаат определени технолошки својства. Овие квасци се селектирани или производствени соеви квасци. Во терминологијата за селектирани квасци се користи терминот културни квасци, додека за штетните-диви квасци.

Во последниве години, постои поголем интерес кај научниците и производителите на вино за автохтони соеви квасци. По извршената селекција на автохтони соеви квасци со добри карактеристики, истите можат успешно да се користат во производството на вино. Со тоа би се подобрил биодиверзитетот во дадена област, би се збогатило биолошкото наследство, што е од суштинско значење за производство на вина со контролирано потекло, со типичен вкус и арома (Margalit, Y., 2004).

Сортите кои обезбедуваат суровина за производство на црвени вина со различен квалитет, мора да имаат боени материи во лушпата или во сокот. Лушпата треба да биде добро обоена, со доволна содржина на боени материи.

Сортата на грозје Вранец потекнува од Црна Гора, настаната по природно вкрстување на сортите Кратошија и Дуљенга. Во Македонија е водечка сорта за производство на црвени вина и го карактеризира типот на македонските црвени вина. Застапена е во сите топли виногорја, а во помали размери и во другите виногорја во Македонија. Сортата Вранец обезбедува суровина за производство на квалитетни и врвни црвени вина. Поради редовните и високи приноси, високиот квалитет на суровината и вината, треба да остане во нашиот сортимент како бренд на македонските црвени вина, но и сорта на грозје на која многу треба да се работи во иднина на микролокации кои би се заштитиле како подрачја кои би биле ексклузивни за Вранецот како сорта (Божиновиќ, З., 2010).

Сортата на грозје Каберне Совињон потекнува од познатото француско виногорје Бордо. Најмногу е застапена во Франција (областа Бордо). Раширена е во голем број лозарски земји и секаде обезбедува висок квалитет на вината. Кај нас е најмногу застапена во велешкото, тиквешкото и скопското виногорје. Како „крал“ на грозјето обезбедува суровина за производство на врвни црвени вина. Прилагодлива сорта на различни почвени и климатски услови. Во услови кај нас добиените вина се со висок квалитет. Поради широкиот ареал на одгледување, има услови за нејзино одгледување во сите наши виногорја (Божиновиќ, З., 2010).

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1. Алкохолна ферментација

Под алкохолна ферментација ги подразбираме сложените биолошки, физички и хемиски промени што се одвиваат во ширата како последица на што ширата се претвара во алкохолен пијалак, наречен вино. Зборот ферментација потекнува од латинскиот збор “fervere” што во буквален превод значи „вриење”.

После гмечењето на грозјето во гроздовата каша или ширата настапува алкохолна ферментација, при што се одвиваат сложени биохемиски процеси, предизвикани од квасецот.

Алкохолната ферментација е најважен процес во производството на вино. Покрај алкохолната ферментација под дејство на разни аеробни или анаеробни микроорганизми можат да се појават и други видови ферментации, како на пример оцетна, млечно-кисела, бутерна и др., што се јавуваат во процесот на винификација и чување на виното.

Алкохолната ферментација и производството на вино биле познати уште кај старите народи, но долго време не биле познати вистинските причини и суштината на сложените биолошки и хемиски процеси во самата алкохолна ферментација. Една од основните причини било не познавањето на правилниот тек на винификацијата за производство на поквалитетно вино.

Leeuwenhooes, 1680 година, во ширата што ферментира, забележал со помош на микроскоп микроорганизми-јајцести клетки (квасци), но не бил запознаен со нивната улога во процесот на алкохолна ферментација. Лесно расипливите материји од растително и животинско потекло можат лесно да се заштитат од расипување ако добро се загреат и се чуваат во добро затворени херметички садови.

Stahl, 1697 година, ја објаснил алкохолната ферментација како механички процес при што една материја во процесот на вриењето лесно го пренесува вриењето и на друга материја подложна на вриење.

Подоцна е установено дека во текот на алкохолната ферментација од шеќерот, покрај етанол и јаглероден диоксид, се формираат и други споредни продукти, како на пример глицерол, ацет-алдехид, оцетна и килибарна киселина.

Познатиот германски хемичар, Liebig, сметал дека алкохолната ферментација е чисто хемиски процес, при што шеќерот се разлага во етанол и јаглероден диоксид и на тој начин ја поставил хемиската теорија за алкохолната ферментација.

Нешто подоцна, 1860 година, познатиот микробиолог, Louis Pasteur, со експерименти докажал дека предизвикувач на алкохолната ферментација како процес е винскиот квасец, теорија спротивна на Liebig, сметал дека алкохолната ферментација е чист биолошки процес, предизвикан од винскиот квасец. Со експерименти докажал дека алкохолната ферментација изостанува ако се загрее гроздовата шира на висока температура со што се уништува винскиот квасец, и доколку се случи истата шира да дојде пак во контакт со квасец, ќе започне да ферментира.

Значителен дел од истражувањата на Louis Pasteur, се посветени на производство на вино во Франција. Тој ја истражува алкохолната ферментација на гроздов сок и утврдува не само на образување алкохол и јаглероден диоксид, туку и создавање на глицерол, ацет-алдехид, оцетна и килибарна киселина. Тој детално ги проучува болестите на виното и усвојува методи за негова заштита и лекување. Резултатите од сите негови истражувања се собрани во неговиот бесмртен труд "Etudes sur le vin" (1865).

Во епохата на Louis Pasteur, се направени првите истражувања на квасочните ензими. Traube, тврди дека ферментацијата се должи на ензим кој квасците го оделуваат во средината.

Bertelo, 1860 година, изолира инвертаза од квасочни клетки, а по него Fischer и Thierfelder изолираат малтоза, лактоза и мелибиоза исто од квасци.

Buchner, 1895 година, констатирал врз основа на бројни истражувања дека винскиот квасец е причинител на овој процес и истиот ја предизвикува алкохолната ферментација со помош на ферментите што ги излучува. Со

своите експерименти установил дека алкохолната ферментација е биолошко-хемиски процес и на тој начин ги соединил двете теории на Louis Pasteur и Liebig.

Значаен придонес во развојот на микробиологијата и алкохолната ферментација има дадено Hansen, којшто истовремено со R. Koch, создава методи за изолација на чисти култури квасци од единечни клетки. Hansen, бил првиот којшто применил чисти култури квасци во производството на пиво.

Miler, Vartman и Thurgau биле првите истражувачи коишто примениле чисти култури на вински квасци во производството на вино.

Важна етапа во микробиологијата на вино е испитувањето на бактериолошката микрофлора на виното и процесите кои таа ги предизвикува.

Koch, 1990 година, докажува дека намалувањето на киселините во виното се должи на бактерии кои ја разградуваат јаболчната до млечна киселина и јаглероден диоксид.

Ферментацијата е природен процес во кој шеќерите од грозјето (главно глюкоза и фруктоза) се претвараат во етилалкохол и јаглерод диоксид.

Теодор Шван, прв открил дека оваа трансформација е причинета од „шеќерова габа“ (т.е. организам *Saccharomyces*). Пред ова се сметало дека ферментацијата се случува благодарение на феноменот познат како „спонтанa генерација“, поврзана со различните форми на „магија“. Грците ја нарекувале ферментацијата “zestos” или „вриење“, од каде што произлегол терминот квасец (Efstratios Nikolau et al., 2006).

Така, во Франција се родила дисциплината микробиологија, главно како резултат на љубопитноста на Пастер за процесот алкохолна ферментација.

Денес знаеме дека ферментацијата на виното се одвива преку одредени ензими (протеински соединенија создадени од квасните клетки) кои дејствуваат како катализатори во забрзувањето на конверзијата на шеќерот во алкохол.

2.2. Квасци

Производителите на вино повеќе од неколку илјада години биле без идеја зошто или како слаткиот дел од грозјето се претвора во алкохол. Ова не беше познато сè до времето на Pasteur, во средина на 19 век, кога е откриен микробиолошкиот процес, што настанува од квасецот. Доколку се остави ширата сама, „природниот“ квасец кој се наоѓа во грозјето и во винаријата ќе започне ферментација. Во текот на многу годишни истражувања бројни опити и пропусти во производство на вино биле избрани најповолни квасци. Денес се познати околу 150 видови квасци кои се категоризирани во 20 различни различни родови. Најважните квасци за производство на вино им припаѓа на видовите *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces bayanus*.

Најчестите микроорганизми што се среќаваат во грозјето и виното се квасците. Тие имаат најголемо значење за виното бидејќи тие се одговорни за алкохолната ферментација. Од околу 350 видови квасци, само 70 од нив се користат во винопроизводството. Оние кои се редовни жители на виното и гроздовиот сок со целост може да се нарекуваат вински квасци (по класификацијата на Lodder и Kreger van Rij, 1971.).

Нивното постоење беше потврдено во средината на 19 век. Оттогаш научната заедница детално ги испитуваше нивната таксономија и карактеристики. Класификацијата на различните родови и видови квасци најпрво беа формулирани во средината на 20 век и оттогаш три пати е сменета. Најважниот род комерцијални квасци е *Saccharomyces*, а главни видови се *Cerevisiae* и *Bayanus*. Овие видови потоа се класифицирани во различни соеви, како што се *Montrachet*, *Pasteur – Champagne*, *Pasteur – Red*, *Epernay*, *California – Champagne*, *Токау* и други. Соевите се разликуваат главно, според нивната толерантност кон условите на средината, како што се температурата, рН вредноста, содржината на алкохол, сулфур диоксид и други инхибирачки фактори. Исто така, тие се разликуваат според нивната способност да создаваат различни концентрации на споредни производи, различни придонеси во однос на аромата на виното и квалитетот (Barbosa C., et al., 2009).

2.2.1. Морфолошки карактеристики и својства на квасец

Квасците се едноклеточни еукариотски организми кои припаѓаат на царството *Mycota (Fungi)* на живите организми во природата. По типот на исхрана и метаболизам се карактеризираат по одредени знаци со растенијата (вшмукување на хранливи материји) и животните (хетеротрофен начин на размена на јаглеродот, присуство на гликоген, содржина на хитин во клеточната обвивка).

Квасците се традиционално класифицирани со помош на традиционалните техники во кои се утврдени бројни морфолошки, биохемиски и физички својства. Критериуми и методи за примена на овие тестови се разработени од Kreger - Van Rij и вклучуваат форма и големина на клетката, формирање на спори, ферментација и апсорпција на различни шеќери, асимилација на извори на азот, за потребите на факторите за раст и отпорност на циклохексимид.

Постојат голем број на истражувања за класификацијата на квасци, од кои повеќето се нецелосни и не се применуваат. Комплетна е класификацијата на Кудрявцев (1954), кој изврши систематика на спорообразувачките видови. Lodder и сор. (1971) опишуваат 39 родови и 349 вида спорообразувачки и неспорообразувачки квасци, иако описот е направен врз основа на морфолошки и физиолошки показатели.

Создадени се и други класификации на квасци, Barnett и сор. (1983) и Kreger Van Rij (1984), ги групираат во 60 родови и 500 видови (Каров, 1998). Според оваа класификација, квасците припаѓаат на класите *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes* или *Fungi imperfecti* (несовршени габи) и се поделени во 99 родови и 770 вида (Beltran i Casellas, 2005, цит. Според Kurzman and Fell, 1998; Ribereau-Gayon et al., 1999).

Квасците се клетки во форма на јајце со околу 5 –10 μm во дијаметар. Бидејќи немаат стебло, лисја, корења и хлорофил, квасците се сметаат за пониска форма на растенија. Во оптимални услови, во медиум кој е богат со

хранливи материи, тие може да се размножуваат на секој половина час. Тоа е стапка која може да создаде голема популација за релативно краток временски период. Поради тоа благодарение на сè пософистицираните методи за карактеризирање на микроорганизмите на генетско ниво, таксономијата за микроорганизмите постојано се менува.

2.2.2. Комерцијални квасци

При производство на различни типови вина се употребуваат специјално одбрани соеви квасци, кои имаат определени технолошки својства. Овие квасци се нарекуваат комерцијални или селектирани соеви квасци. Во одредени литератури се среќава и терминот културни квасци.

Saccharomyces cerevisiae е вид од родот *Saccharomyces* каде што можат да се најдат култивирани квасци за ферментација на виното, а постојат многу видови за комерцијалните производители на вино. Сите комерцијални видови квасци ги имаат следниве основни карактеристики:

- ✚ Ферментираат 25% до 30% од шеќерот до сувост;
- ✚ Толерантни на 50 до 100 ppm слободен сулфур диоксид;
- ✚ Произведуваат минимални количества оцетна киселина, водородсулфид или сулфур диоксид;
- ✚ Толерираат студени (10 °C) и топли (37 °C) температури на ферментација;
- ✚ Толерантни на ниски рН вредности на ширата (< 3,0).

Многу комерцијални видови квасци имаат посебни својства кои им овозможуваат на производителите на вино мали приспособувања на аромата и на физичките карактеристики на виното. Постојните видови може да ја метаболизираат јаболчната киселина, да ги зголемат јачината и чувството во устата, да ја подобрат стабилноста на бојата, да ги засилат нестабилните терпени и целокупната овошност на виното, да произведат отрови-убијци за да ги сопрат природните квасци, или дури и да му дадат на виното одредена регионална карактеристика (Vine P. R., Harkness M. E., Linton J. S., 2007).

2.2.2.1. Под *Saccharomyces*

Во родот *Saccharomyces* спаѓаат културни и штетни квасци за производство на вино, шпиртус, пиво и др. Општиот број на видовите, вклучен во овој род е различен за одредени класификации. Stelling Dekker (1931), опишува 42 вида, Lodder et Kreger-Van Rij (1952) – 30 вида, Кудривцев (1954) – 18 вида и Lodder (1971) – 41 вид.

Клетките на видот *Saccharomyces cerevisiae* имаат овална, сферична (*Saccharomyces cerevisiae (oviformis)*) или елиптична (*Saccharomyces cerevisiae (ellipsoideus)*) форма. Во зависност од условите на средината, физиолошките и функционалните својства тие може да се менуваат. Поретко се среќаваат квасците со издолжена до цилиндрична форма. Некои видови формираат псевдомицел. Се размножуваат вегетативно со пупење. При соодветни услови образуваат спори без или со претходна копулација. Во еден аскус образуваат 1-4 спори со тркалезна до елипсовидна форма.

Во гроздовиот сок преовладуваат како единечни клетки, но може да се сретнат и како групирани во мали групи или кратки синцири. Големината на клетките варира, во широки размери, но средните димензии се некаде 4-8 до 5-9 μm . (Бамбалов, 1981).

Два главни вида *Saccharomyces* се откриваат во виното: тоа се *S. bayanus* и *S. cerevisiae*. Тие ферментираат гликоза, фруктоза, галактоза, сахароза, малтоза, 1/3 рафиноза и асимилираат гликоза, сахароза, малтоза, рафиноза и етанол. *Saccharomyces* не можат да ферментираат или асимилираат пентози (Kenneth C. Fugelsang, Charles G. Edwards, 2007).

При развој во течна хранлива средина (гроздов сок) клетките на *Saccharomyces cerevisiae* се размножуваат енергично, предизвикуваат интензивна алкохолна ферментација, со многу активни млади напупени клетки во првите денови. Средината се заматува, интензивно се испуштаат меурчиња од CO_2 , додека на површината се формира пена. По завршувањето на бурната

ферментација, клетките се таложат, течноста се избиструва, на површината на сидовите од епруветата се формира прстен. (Бамбалов, 1981).

Saccharomyces cerevisiae претставуваат 80% од сахаромицетните квасци лоцирани по грозјето и во ширата се присутни во сите стадиуми на технолошкиот процес (Бамбалов, 1981, цит. Според Gayon et al., 1975; Кочева, 1998, цит. Според Burjjan и Turina, 1979, Тини, 1990). Тоа е поврзано со нивната висока стапка на размножување, брзото усвојување на супстратот во средината, инхибирачкото влијание на нивните метаболити врз другите видови квасци.

Во значителни количини, *Saccharomyces chevalieri* се среќава и на грозјето и во текот на алкохолната ферментација. Според класификацијата на Lodder (1971) тука се вклучени уште два вида *Saccharomyces paradoxus* и *Saccharomyces fructuum*. Видовите покажуваат висока способност за формирање на алкохол, чувствителност на SO₂ и синтетизираат метаболити слични на оние од *Saccharomyces cerevisiae* (Bambalov, 1981, Кочева, 1998, Burjjan и Turina, 1979).

2.2.3. Влијанието на факторите на животната средина врз развојот и метаболизмот на квасецот

Квасците се развиваат со одредена комбинација на индикатори кои ја карактеризираат нивната средина. Кога тие заземаат оптимални вредности се развиваат непречено, но кога некои од нив ќе дојдат во ситуација на одредени отстапувања, квасците доживуваат благи потешкотии, метаболизмот им се менува, при посилни девијации на вредностите тие престануваат да ферментираат и да се размножуваат, а при одредени случаи и умираат. Познавањето на влијанието факторите на средината на активноста на квасецот, овозможува технолошките процеси да бидат управувани, а метаболизмот на клетките да биде насочен во посакуваната насока. Факторите на животната средина може да се поделат во 3 групи: физички, хемиски и биолошки (Спасов, 2008).

2.2.3.1. Физички фактори

2.2.3.1.1. Температура

Квасеците *Saccharomyces cerevisiae* се мезофилни и факултативно психрофилни микроорганизми. Оптималната температура за репродукција им е 22-27 °C, а минималната температура при којашто може да се размножуваат е 0-3°C. Во зависност од составот на средината имаат различна приспособливост, како во присуство на алкохол, SO₂ и температура над 37 °C, клетките умираат.

Квасците покажуваат највисока чувствителност на температура на почетокот од својот развој во средината. Во завршната фаза на ферментацијата тие се релативно отпорни и наглите промени имаат незначителен ефект врз нив (Ribereau-Gayon et al., 1999).

Оптималната температура за размножување на квасците е оптимална и за нивниот метаболизам. Утврдено е дека винските квасци имаат најсилен интензитет на дишење при температура од 30°C, и најсилна ферментациска активност при 35°C. Тоа е важно за една средина што не содржи алкохол и за стационарната култура на квасци. При производството на вино таквите услови не можат да се создадат и затоа не се препорачува ферментацијата да протекува при температура од 35°C. Од друга страна, високите температури го влошуваат квалитетот на производството, ги зголемуваат загубите на алкохол и го олеснуваат развојот на штетните микроорганизми.

2.2.3.1.2. Содржина на влага

Нормалната содржина на влага е помеѓу 75-80%. Ние можеме да направиме разлика помеѓу две групи на влага во клетките на квасците - врзана вода и слободна вода. Врзаната вода, учествува во различните колоидни системи на клетката, таа сочинува околу 65% од вкупната количина вода, ги осигурува животните реакции на клетката.

Слободната вода има главно транспортни функции, за воведување на хранливите материи во клетката и отстранување на метаболитите. Таа има и преглед за регулацијата на температурата во клетката.

При намалување на водената содржина на клетката, од почеток се намалува ензимската активност, процесите на ферментација и размножување се забавени, а подоцна целосно запираат. Понатамошното намалување на содржината на влага во клетката преминува кон состојба на анабиоза (целосно отсуство на биохемиски процеси). Овие процеси на дехидрација се реверзибилни. Ако ставиме една дехидрирана клетка во доволно влажна средина, таа ќе биде навлажнета (апсорбира вода), т.е. ќе се рехидрира со што ензимските системи повторно ќе ја зголемат нивната активност (Спасов, 2008).

2.2.3.1.3. pH

Оптималната pH вредност за раст на квасец е помеѓу 4,0 и 6,0 но нормално се развиваат во интервал од pH 2,8 до pH 3,8 карактеристично за гроздовата каша. При pH 2,8 ферментацијата е попречена, а при pH над 3,8 се создаваат услови за развој на други несакани микроорганизми. Се менува механизмот на процесите и во средината се одделуваат секундарни производи кои го влошуваат квалитетот на виното.

Со зголемувањето на pH вредноста, се намалува количеството на молекуларен SO₂ и неговото влијание врз средината се намалува. Количеството на ацеталдехид се зголемува.

Процесите на оксидација се забрзуваат со лесно оксидирачки соединенија. Рамнотежата на слободните антоцијани се префрлаат во безбојни, при што интензитетот на бојата на црвените вина се намалува, вредностите на нијансата се зголемуваат, а се зголемува процентуалното учество на жолтата боја ([http // www.brsquered.org / wine](http://www.brsquered.org/wine)).

2.2.3.1.4. Бистрина на ферментационата средина

Бистрината зависи од големината на честичките, формирајќи внатрешната површина на средината, и колку таа е поголема, толку се забрзува размножувањето на клетките во текот на ферментацијата, се зголемува синтеза на повеќе естри и виши алкохоли. Цврстите честички го олеснуваат ослободувањето на CO₂, обезбедуваат рамномерно распоредување на клетките во средината, како и лачат некои супстанции што го стимулираат развојот на квасците (Бамбалов, 1981; Ribereau-Gayon et al., 1999).

Утврдено е дека бистрењето на гроздовиот сок предизвикува намалување од 40-100% на масните киселини и стероли и 15-50% на макромолекули во средината, зголемувајќи ја активноста на квасците, што истовремено води кон зголемување на содржината на оцетна киселина и масни киселини со инверзија на активноста на клеточната ферментација (Alexandre and Charpentier, 1998). Додавањето на талог од бистрење во гроздовата шира, како и на различни избистрени коагуланти го зголемува степенот на ферментација и влијае на поинаков начин на формирање на ацеталдехид, оцетна киселина и пирогроздова киселина (Delfini and Costa, 1993).

2.2.3.1.5. Флокулациона способност

Распределбата на квасците во средината зависи од природата на самите квасци и склоноста кон флокулација. Флокулационата способност е генетски сместена во "Flo-гените", локализирани во хромозомите на клеточното јадро. Способноста на квасците да флокулират зависи исто така од составот и структурата на клеточниот ѕид, претежно од содржината на манански полисахариди. Постојат различни теории за механизмот на флокулациониот процес. Клетките на нефлокулираните квасци имаат мазна обвивка, а на флокулираните се покриени со влакненца кои содржат калциум.

Се претпоставува дека флокулацијата се јавува како резултат на јонски врски помеѓу калциумот и карбоксилни или фосфатни групи лоцирани на површината на соседните клетки. Друга теорија ја смета флокулацијата на квасци како колоиден феномен - електричното полнење на клетките се менува во текот на алкохолната ферментација, под влијание на рН и јонски групи во средината, и процесот започнува при постигнување на изоелектричната точка.

Клеточниот ѕид на флокулирачките квасци содржи хидрофобни гликопротеини, а на нефлокулирачките - хидрофилен полисахарид и создадената хидратациона обвивка околу клетките со што го спречува лепењето. Постои хипотеза според која флокулацијата се должи на способноста на клетките на флокулирачките квасци да синтетизираат специфичен протеин, кој се поврзува со одредени полисахариди од обвивката на други клетки. При контакт со протеиназата овој протеин се хидролизира и квасците го губат тоа својство. Флокулацијата е променлива карактеристика на квасците. При долготрајно складирање е можно да настанат мутации кои влијаат на "Фло-гените" на клетките и тие да ја изгубат флокулирачката способност. Флокулирачките соеви предизвикуваат забавена ферментација бидејќи спојувањето помеѓу клетките го намалува контактот со хранливата средина и ги отежнува метаболичките процеси. Флокулацијата на квасците влијае и од надворешните услови - состав на средината, содржината на алкохол, аерирањето и др. Утврдено е дека факторите што го забрзуваат размножувањето на клетките, ја попречуваат флокулација (Бамбалов, 1981).

2.2.3.2. Биолошки фактори

2.2.3.2.1. Интеракции меѓу квасци

Помеѓу различните видови квасци што се наоѓаат во грозјето и во гроздовата каша, присутни се интеракции на антагонизам, под влијание на условите и составот на средината и на одделните метаболити. Секој фактор може да даде предност на еден вид и да го потисне развојот на друг вид (Нестерова и Соом, 1973, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Тие се обично антагонистички во различни степени. На пример *S. cerevisiae (ellipsoideus)* се дислоцира целосно, додека *S. cerevisiae (oviformis)* само во услови на бурната ферментација. Во секундарната ферментација се случува обратна тенденција. Освен меѓу родовите, антагонизмот може да се појави и помеѓу видовите. Истражувањата утврдиле постоење на три вида:

- Убиец - квасец, кој уништува други квасци;
- Чувствителни - чувствителни квасци кои се уништени од други квасци;
- Неутрални - не уништуваат и не можат да бидат уништени.

Во рамките на ист вид можат да се сретнат квасци и од трите фенотипови, Килер – квасците се сретнуваат со околу 14 %, Чувствителните се со околу 78%, а Неутралните се околу 8%.

Природата на уништувачкиот фактор на К-квасците е протеин, синтетизиран од квасец во нивната експоненцијална фаза. Овој протеин е термички отпорен, со максимална синтеза при pH = 4. Неговата синтеза е констатирана во ДНК или РНК на квасците. Откако ќе се синтетизира, токсинот се прикрепува на клеточната обвивка на чувствителниот квасец. Акцепторот е соединението 1,6-β-глюкан. Прикрепувањето доведува до потешкотии во добивањето на енергија, клетката станува неспособна да ја користи енергијата добиена од метаболизмот и изумира (Спасов, 2008).

При спроведување на алкохолна ферментација со К-квасци, брзината ќе зависи од активноста на сојот - ако таа е пониска, за да се осигура доминирањето, неопходно е 10% засејување, а ако таа е висока, ќе биде доволно засејување со 0,1%. Утврдено е дека при одвивање на ферментацијата со соеви *Saccharomyces* од фенотип К тие го потиснуваат развојот на апикулатни видови од истиот фенотип и на *Saccharomyces* од фенотип S. Добиените вина не содржат метаболити, кои ќе го влошат органолептичкиот квалитет на виното (Тјурин и Скорикова, 1980; Voone et al, 1990, Вуурен и Џејкобс, 1992; Риборо-Гајон и сор., 1999). Треба да се нагласи дека појавата на К-факторот не зависи од страна на даден сој, туку зависи од неговата отпорност спрема другите инхибитори, на пример сулфур диоксид. За да може да се појави оваа дејство на потиснување К-квасецот треба да се

развие беспрекорно при соодветните услови. Сам за себе, потенцијалот за К-дејството не е доволен.

2.2.3.2.2. Интеракции помеѓу квасците и млечно-кисели бактерии (МКБ)

Кога се развиваат во една иста средина, и двата вида имаат потешкотии. Во услови на бурна ферментација квасците се посилни антагонисти и ги потиснуваат речиси целосно МКБ и малку од нив ја задржуваат виталноста до крајот на процесот. Во овие случаи има потешкотии во ЈМКФ. Ако квасците се послаби антагонисти, со завршување на алкохолна ферментација останатите МКБ активно ја спроведуваат јаболчно-млечно-киселата ферментација (ЈМКФ). Забавувањето на ферментацијата на самиот почеток исто крие ризик од развој на МКБ и по што следува и манитна ферментација (Спасов, 2008, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Edwards et al. (1990) и Riberau-Gayon et al (1999) посочуваат дека инхибирањето на млечно-кисели бактерии се должи на продукција на виши масни киселини од квасците, така што и мали концентрации од деканска и палмитинска киселина можат да сопрат ЈМКФ.

Larsen et al. (2003) го проучуваат потиснувачкото влијание на SO₂ продуциран од квасците врз бактериите. Тие дошле до заклучок дека *Leuconostoc oenos* се развива подобро во вина после добивање на ацеталдехид или H₂O₂ кои се во заемно дејство со слободниот SO₂. При развојот на мешани култури во средината се забележува пократка Лаг-фаза и побрзо растење кај квасците. Преминувањето од Лаг-фаза кон логаритамска фаза кај бактериите се совпаѓа со фазата на изумирање на квасочните клетки, коишто истовремено добиваат хранливи материи од нивната автолиза (King and Veelman, 1986; Ribereau-Gayon et al., 1999). Од своја страна бактериите со своите гликозидази и протеази ја забрзуваат хидролизата на клеточните сидови на квасците (Ribereau-Gayon et al., 1999).

Бактериите, особено претставниците на род *Lactobacillus*, исто така, можат да покажат инхибирачко дејство врз развојот на квасците бидејќи влијанието им е посилено врз способноста за размножување, отколку врз ферментациската активност. При истовремен развој на квасците и млечно-киселите бактерии, вторите можат да метаболизираат пирогроздова киселина и ацеталдехид, формирани од квасците, кои ги претвораат во млечна и оцетна киселина и на тој начин да ја потиснат алкохолната ферментација (Бамбалов, 1981).

2.2.3.2.3. Интеракции помеѓу винските квасци и оцетнокиселите бактерии

Во зависност од условите на средината некои соеви вински квасци се посилни антагонисти спрема оцетнокиселите бактерии, а други послаби. Ако ферментацијата се спроведува со слаб сој квасци, добиените вина ќе имаат покачени испарливи киселини. Во анаеробни услови сите видови квасци се посилни антагонисти, а при повисока температура поодржливи се бактериите. Спроведувањето на алкохолната ферментација со соеви кои го потиснуваат размножувањето и оксидативната активност на оцетните бактерии, води до добивање вина со нормален состав во однос на испарливите киселини.

2.2.3.3. Хемиски фактори

2.2.3.3.1. Содржина на азот

За нивното нормално функционирање и размножување, квасците имаат потреба од азотни материи. *Saccharomyces cerevisiae*, користат како азотни извори амониумови соли, аминокиселини, амиди, нискомолекуларни пептиди и други азотни соединенија. Некои апикулатни видови квасци (*Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida stellata*) учествуваат главно во

спонтаната ферментација, асимилираат слабо и од повисоките пептиди и протеини (Beltran i Casellas, 2005).

Неорганскиот азот се претвара во органски преку реакција со α -кетоглутарат, од која со глутамат дехидрогеназа се добива глутамин. Квасецот со тоа е веќе способен за синтеза на други аминокиселини. Најважната аминокиселина за раст на квасците во гроздовата шира е аргинин (Sprayd and Andersen-Bagge, 1996; Stines et al., 2000 цитирани по Kenneth C. Fugelsang, Charles G. Edwards, 2007).

Содржината на азот во гроздовиот сок се движи од 60 до 2400 mg / dm³ во зависност од сортата грозје, степенот на зрелост, здравствената состојба и реонот на одгледување. Гроздовата каша содржи значително количество азотни материи, 50-70% се потребни за квасците. За нормално одвивање на ферментацијата минималното количество на азот во средината треба да биде 120-140 mg / dm³ (Ingledew and Kunkee, 1985; Alexandre and Charpentier, 1998). Тоа зависи од видот на квасецот, концентрацијата на шеќер и аерацијата на почетокот на ферментацијата. Со нивното зголемување се зголемуваат и потребите од азот за квасците (Monteiro and Bisson, 1992; Jiranek et al., 1995, (1); Junior et al., 2008).

Julien et al, (2000) нудат метод за одредување на потребата на квасците од азот и кислород, и ги изучуваат нивните потреби според соодветниот сој. Нивните потреби од азот се одредуваат во стационарната фаза на ферментација. За да се утврди ефикасноста на потребниот азот, се предизвикува одржлив процес на ферментација. Постојат многу важни разлики, некои видови имаат потреба од двојно повеќе азот за да се одржи истата ферментација. Врз основа на овие резултати, избраните видови на квасци се класифицирани како квасци со ниски, средни и високи потреби од азот.

При развој во средина богата со азотни материи содржината на клетките се зголемува, со што е поврзано со забрзување на способноста за размножување, интензитет на ферментација (Jiranek et al., 1995, (1)). Исто така, капацитетот за производство на алкохол е зголемен (3-6%). Недостатокот на асимилиран азот ја запира синтезата на протеините во клетките и се инактивираат ензимите што го обезбедуваат разградувањето на шеќерите, при

што доведува до прекин на ферментацијата (Lafon-Lafourcade, 1984; Monteiro and Bisson, 1992; Salmon et al., 1993; Minarik, 1998; Спект, 2003; Мендес-Фереира и сор., 2004; Јуни и др., 2008).

Додавањето на азотни материи во гроздовата шира сиромашна со азот, за време на ферментацијата е широко користен процес од винариите, како превентивна мерка против евентуални проблеми. Покрај тоа, азотот е во директна врска за формирање на ароматични материи. Додавањето на азот во подоцнежните фази на ферментацијата предизвикува намалување на нивото на алкохол и оцетна киселина, формирани од квасците, во споредба со додавањето азот пред ферментација.

Постои обратнопропорционална врска помеѓу нивото на азот и акумулацијата на сулфур диоксид, како и формирањето на октанска и деканска масна киселина, кои се познати како инхибитори на развојот на квасците и ферментациската активност. Бројните истражувања од португалски научници покажуваат дека повеќе азот во средината, исто така води до пониски нивоа на продуциран алкохол, но повисоки нивоа на етил естри кои учествуваат во ароматичниот состав на виното, односно повеќе азот во средината би значел побогат вкус и арома на виното. Моментот на додавање на азотни материи е исто така важен. Додаден во подоцнежна фаза во ферментацијата доведува до помало ниво на алкохол, но исто така ја намалува оцетната киселина, чие високо ниво има негативно влијание врз квалитетот на виното (Catarina Barbosa et al., 2009).

2.2.3.3.2. Содржина на кислород

Кислородот е уште еден важен хемиски фактор кој влијае врз метаболизмот на квасецот за време на винификацијата. Иако *Saccharomyces* можат да се развиваат под анаеробни услови, нивната виталност при целосно отсуство на кислород е силно ограничена. Тој им е потребен за синтеза на стероли (ланостерол, ергостерол), незаситени масни киселини и естри на коензим А (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Комбинираното додавање на азот и кислород во правилни пропорции го штити процесот на ферментација од запирање. Потребите на различни видови квасци од кислород се исто така различни (Џулиен и сор., 2001).

При процесот на винификација кислородот ја засилува алкохолната ферментација индиректно преку забрзување на размножувањето на клетките и синтезата на ацетил-СО-А. Во текот на процесот, квасецот може да консумира 1-3 mg O₂ / h за 10⁹ клетки. Додавањето на 2,6-5,2 mg / dm³ / h, O₂ во шира обезбедува добивање на 90 милиони клетки/cm³ и нормално одвивање на ферментацијата.

Континуираното размножување и поголемиот број активни клетки води кон побрза и целосна деградација на шеќерите (Бамбалов, 1981, цит. по Бурян и Тјурин, 1979; Alexandre and Charpentier, 1998; Minarik, 1998; Ribereau-Gayon et al., 1999).

Иако ферментацијата е анаеробна, неопходно е користење на кислородот во втората фаза на ферментацијата (експоненцијален раст). Потребен е за искористување на стероидот ергостерол и незаситена масна олеинска киселина (C₁₈H₃₄O₂), за градење на клеточната мембрана. Без неа квасецот нема да биде способен да се размножува и да ја зголеми неговата биомаса којашто е потребна за да се заврши процесот на ферментација (Margalit Y., 2004).

2.2.3.3.3. Алкохол

Алкохолот е главен метаболит од активностите на квасците при ферментацијата, но истовремено покажува и токсично влијание врз нив. Неговиот инхибиторачки ефект се манифестира и при минимални концентрации во средината, но со зголемување на содржината на алкохол е зголемен и ефектот. Максималното количество алкохол кој го продуцира определен сој не се совпаѓа со леталната доза.

Етанолот влијае посилно врз способноста за размножување на клетките и послабо врз ферментациската активност, но со зголемување на неговата содржина во средината се намалува интензитетот на ферментација на квасците. Алкохолот ја намалува активноста на клеточните ензими контролирајќи го дишењето, ферментацијата и размножувањето.

Инхибирачкото дејство се изразува со нарушување на биохемиските процеси што се случуваат во клетката – коагулирање на протеините на основните аминокиселини кои обезбедуваат апсорпција на шеќерите. Најчувствителни кон етанолот се хексокинеза, алкохолдехидрогеназата, декарбоксилаза, пируватдехидрогеназата. Алкохолот го менува составот на липидите и пропустливоста на клеточната мембрана, го намалува протонскиот потенцијал и активноста на аденозинтрифосфатазата (Lafon-Lafourcade, 1984; Alexandre and Charpentier, 1998; Carrasco et al., 2001; Moreno -Арибас и Поло, 2005, Белтран и Казелас, 2005).

Влијанието на алкохолот врз квасецот исто така зависи од други фактори на средината. Токсичниот ефект се засилува при зголемување на температурата и при постигнување на вредности повисоки од 35°C, ферментацијата запира, дури и при ниска алкохолна содржина. При високи концентрации на шеќери и зголемен осмотски притисок исто така се зголемува инхибирачкото дејство и се отежнува одделувањето на образованиот алкохол надвор од клетката. Аерирањето на средината го намалува количеството на продуциран етанол, поради промена на метаболизмот на квасците и синтеза на повеќе секундарни производи - глицерол, ацеталдехид, оцетна киселина и др. (Beltran I Casellas, 2005),

Различни видови на соеви покажуваат различна отпорност спрема етанолот. Апикулатните квасци го спречуваат развојот кога се создава 4-6 vol% алкохол во средината, а *Saccharomyces cerevisiae* при 18-19 vol%.

Утврдено е дека некои диви квасци (*Hansenula anomala*, *Saccharomyces paradoxus*) не отстапуваат во ферментациската активност на *Saccharomyces cerevisiae*, но имаат помала способност да образуваат алкохол, додека други (*Saccharomyces prostoserdovi*, *Hanseniaspora antillarum*) го забавуваат почетокот

на ферментацијата, но образуваниот етанол е пропорционален со тој на селектираните квасци (Колева, 1978).

Винските квасци *Saccharomyces oviformis* пројавуваат поголема размножувачка способност во алкохолната средина и ја спроведуваат до крај ферментацијата на гроздовата каша, со повисока концентрација на шеќер (Рибери-Гайон и Пејн, 1965; Amerine et al., 1972; Бамбалов, 1981; Salmon et al., 1993, цит. Илиева Ф., 2013).

2.2.3.3.4. Содржина на шеќер

Сите организми, а особено единечните еукариотски клетки, како што се квасците, развиле сложени механизми за соодветно прилагодување на нивниот метаболизам кон променливите услови на средината. *S. cerevisiae* најдобро одговара на потребите на алкохолната ферментација, каде што количината на шеќер постојано се намалува на сметка на алкохолот кој постојано се зголемува. Тие можат да користат гликоза како извор на храна во оваа средина. Зрелото грозје содржи во себе доволни количества шеќери, претставени главно од гликоза, фруктоза и незначителни количества сахароза.

Квасецот активно се размножува во првите фази на ферментацијата и ги разградува шеќерите. Разградувањето на гликозата започнува најпрво и најбрзо, што резултира со зголемување на процентот на фруктоза во средината. Токму тоа постојано зголемување на односот гликоза / фруктоза во корист на фруктозата се смета за една од главните причини за предвремен прекин на ферментацијата (Berthels et al., 2004, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Треба да се напомене дека *S. cerevisiae* ферментира шеќери дури и во присуство на кислород. Гликоза-6-фосфат е метаболит од централно значење за метаболизмот на јаглеродородите.

Во средина со ниска содржина на шеќер неколку грама на литар, квасците се размножуваат и бавно ферментираат. Винските квасци ја ферментираат без тешкотии гроздовата каша, која содржи 20-25% шеќер.

Повисоките концентрации дејствуваат инхибиторно, како врз нивното размножување така и врз ферментацијата. Тоа се должи на зголемениот осмотски притисок на средината, со што последователно се нарушуваат метаболитичките процеси на клетката. При висок осмотски притисок квасците губат многу клеточна вода и плазмолизираат. Осмотскиот притисок на гроздовиот сок зависи од растворените соли и главно од количеството на шеќерите. Отпорноста на квасците спрема зголемената содржина на шеќер е различна за различни видови и соеви квасци.

Осмоторантни вински квасци се развиваат во гроздова каша со концентрација на шеќер од 40-50%, *Saccharomyces Bailii* до 60%, *Saccharomyces Rouxii* до 70-80 %. Зголемените концентрации на шеќер (над 25-30%) предизвикуваат морфолошки и физиолошки промени на квасците. При висок осмотски притисок размерите на клетките се намалуваат со 1-1 μm . Размножувањето и ферментацијата постепено ослабуваат. На следнава табела 1. се забележува дека колку е повисока почетната концентрација на шеќери, толку е понизок процентот на образуван алкохол, до целосно прекиравање на ферментацијата.

Табела 1. Ферментација на концентрирана гроздова каша
Table 1. Fermentation of concentrated grape must

Шеќери (%)	37	42	47	55	75
Образуван алкохол (vol%)	8.6	6.3	5.9	3.4	0

Квасците *Saccharomyces Rouxii* се развиваат во силно концентрирани средини, но тие исто така образуваат мали количества алкохол.

При ферментација на гроздова каша со повеќе шеќери винските квасци образуваат повеќе испарливи киселини. Поради тоа природните десертни вина содржат над 2 g/dm^3 шеќери. За ферментација на гроздова каша со повисока шеќерна содржина, треба да се употребуваат осмоторантни вински квасци кои можат при тие услови да создадат доволно алкохол.

2.2.3.3.5. Фактори на раст

Во минимални количини факторите за раст се потребни за нормален развој на сите микроорганизми. Недостигот или нивното отсуство во средината доведува до забавување на ферментацијата и промена на метаболизмот на клетките (Lafon-Lafourcade, 1984; Julien et al., 2003).

Дел од квасците се аукоавтотрофни и сами ги синтетизираат потребните материи за раст, а други се аукохетеротрофни и имаат потреба од нив од еден или неколку витамини (Бамбалов, 1981). Во зависност од условите на култивирање нивните потреби од факторите за раст може да се променат.

Од суштинско значење за нормален развој на квасците е содржината на тиамин (витамин Б1). Неговата количина во гроздовата каша варира од 150 до 750 $\mu\text{g} / \text{dm}^3$. Тој влегува во составот на карбоксилазата, која за време на ферментацијата го врши декарбоксилирање на пирогроздовата киселина до ацеталдехид. Недостатокот во средината води до намалена активност на ензимот и побавно одвивање на процесот. Тиаминот учествува и при кондензација на ацетоин и формирање на 2,3-бутиленгликол (Alexandre and Charpentier, 1998; Minarik, 1998; Julien et al., 2003 по Татјана Јончева, 2010). Пантотенската киселина е еден од главните фактори за раст за квасците бидејќи влегува во составот на коензим А вклучен во реакциите на ацетилирање и синтезата на масни киселини.

Винските квасци можат да синтетизираат биотин (витамин Н) и дел од него преминува во средината. Тој влегува во составот на ензимите, катализирајќи ги реакциите на деаминарање и декарбоксилирање. Недостатокот го ограничува растот и ги оштетува клеточните мембрани (Julien et al., 2003 по Татјана Јончева, 2010). Значително стимулативно дејство врз квасците имаат стеролите и некои виши масни киселини (палмитолеинова, стеаринова, линолова) кои учествуваат во составот на клеточната мембрана. Нивен недостаток во средината води до нарушување на структурата и намалување на способноста на размножување и ферментациската активност на клетките.

2.2.3.3.6. Сулфур диоксид (SO₂)

Сулфур диоксид (SO₂) се користи при производство, складирањето на вината и дезинфекција на садовите за производство на вино. Тој делува антисептично спрема штетните микроорганизми; лесно оксидира и ги штити од оксидација другите состојки; ги подобрува екстракциските процеси на обоените и фенолните материи при производство на црвени вина; го олеснува бистрењето на гроздовиот сок при производство на бели вина.

Сулфитираните вина имаат повисок процент на алкохол, екстракт, поинтензивна боја и пониски испарливи киселини (Јанков, 1992).

При сулфитирање SO₂ се користи во форма на гас, течна сулфуреста киселина (H₂SO₃) и тврд калиум метабисулфит (K₂S₂O₅), а се внесуваат во различни количества во зависност од гроздовата каша и виното.

Пред ферментацијата ширата од здраво грозје за бели вина се сулфитира со 30-70 mg SO₂ / dm³, а кашата од здраво грозје за црвени вина со 30-60 mg SO₂ / dm³. Дозите се зголемуваат со обработка на ферментирано грозје, повисока рН вредност, содржина на шеќер и температура на средината. Користењето на повисоки дози на SO₂ пред ферментацијата води до акумулација на повеќе ацеталдехид во виното и го влошува квалитетот (Јанков, 1992).

Различните видови и соеви на квасци покажуваат различна чувствителност кон SO₂. Винските квасци *Saccharomyces cerevisiae* се карактеризираат со висока отпорност. Некои соеви на *Saccharomyces cerevisiae* (*ellipsoideus*) и *Saccharomyces cerevisiae* (*oviformis*) задржуваат 50% активни клетки при 600 mg / dm³ SO₂ во средината. Чувствителните апикулатни видови квасци се целосно инактивирани кога средината е сулфитирана со 300 mg / dm³ на SO₂. Сепак, некои од штетните квасци исто така покажуваат висока отпорност, како *Zygosaccharomyces bailii*, *Schizosaccharomyces pombe* при што се развиваат во шира којашто содржи 500 - 1000 mg / dm³ SO₂, а *Saccharomycodes ludwigii* дури и при количества 500 mg / dm³ слободен и 2000 mg / dm³ вкупен SO₂ (Бамбалов, 1981).

2.2.4. Влијание на метаболизмот на квасецот врз составот и органолептичкиот профил на виното

Веќе сме запознаени со асимилацијата и метаболизмот на шеќерите во виното, како и влијанието на квасецот врз производството на алкохол во процесот на алкохолна ферментација. Конверзијата на шеќери во алкохол е суштината на процесот на ферментација.

2.2.4.1. Влијание на јаглеродниот диоксид (CO₂)

Присуството на CO₂ во средината и неговото ослободување за време на ферментацијата влијае врз размножувањето и физиолошката активност на квасецот. Количината на растворен CO₂ зависи од видот на садот за ферментација и од температурата на процесот. На пониска температура во гроздовата шира има повеќе растворен гас.

Зголемениот притисок од CO₂ (1,5%) ја инхибира само способноста за размножување на квасецот, а ја задржува нивната ферментациска активност (Salmon et al., 1993; Moreno-Arribas and Polo, 2005 по Татјана Јончева 2010). Различните видови и соеви пројавуваат различна отпорност спрема CO₂. Апикулатните квасци (*Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Dekkera*) се значително постабилни на влијанието на CO₂, отколку култивираниите вински квасци *Saccharomyces cerevisiae*. Зголемениот притисок на CO₂ во гроздовата шира доведува до морфолошки и физиолошки промени во клетките.

2.2.4.2. Влијанието на глицерин

За време на алкохолната ферментација квасците формираат значително количество глицерин, којшто влијае на вкусот на виното. Во мали концентрации се јавува и во шира добиена од грозје нападнато од *Botrytis cinerea* (Radler and Schutz, 1982).

Содржината на глицерин зависи од видот и сојот квасци, количеството квасци во ширата, аерацијата, температурата на ферментација и хемискиот состав на гроздовата шира. Квасците *Saccharomyces ludwigii* и *Saccharomyces heterogenicus* формираат најмногу глицерин (7,3-8,5 g / dm³) *Saccharomyces cerevisiae* од 4-7,8 g / dm³, а апикулатните квасци *Hanseniaspora uvarum* од 1-5 g / dm³ (Бамбалов , 1981).

Со зголемување на процентот на засеани квасци во гроздовата шира, истите продуцираат повеќе глицерин, а количината му е максимална кога засејувањето е со повеќе од 10⁸ клетки / cm³. Аерирањето во текот на ферментацијата исто така ја забрзува синтезата кај некои соеви со што концентрацијата на глицерин може да се дуплира (Radler and Schutz, 1982; Gardner et al., 1993; Cronwright et al., 2002).

При зголемување на SO₂ во средината до 100 mg / dm³ продукцијата на глицерин може да се зголеми и до 20% (Minarik, 2001, (2); Berovič et al., 2007 цит. Според Rankine and Bridson, 1971). Амониум сулфатот, влијае врз формирањето на глицерин само кога е во количина помала од 200 mg / dm³ при што е недоволно за развојот на квасците. Аминокиселините аланин, аспарагин, серин и валин ја намалуваат продукцијата на глицерин (Radler and Schutz, 1982). Количеството на глицерин во виното не влијае врз содржината на ароматичните испарливи соединенија (Lubbers et al., 2001).

При повисока температура на ферментација се формира поголема количина глицерин, при што оптималните услови за негова синтеза се 22-32 °C и pH 3,9-4,0. Berovič et al., (2007) дошле до заклучок дека зголемувањето на температурата стимулира акумулација на поголема биомаса со што и продукција на глицерин. При еднократен топлотен шок неговата концентрација се зголемува за 24%, а при двократен - со 65%. Количеството на глицерин зависи и од содржината на ферментирачките шеќери, амониумови соли и сулфитирањето на гроздовата шира (Gardner et al., 1993; Стојанова, 1998; Беленик, 1999; Minarik, 2002).

Глицеринот влијае позитивно врз вкусот на виното, со што го прави пополн и мек, но микробиолошки е нестабилен (Абрашева и др., 2008).

2.2.4.3. Влијание на естери на оцетна киселина

Ацетатите се акумулираат со разградување на ацеталдехидот преку реакција на пируват декарбоксилаза. Ацетатите се главните компоненти на испарливите киселини и имаат негативен органолептички профил, така што прекумерната акумулација е непожелна.

Метаболизмот на јаглехидратите на квасците е главен метаболички процес кој ги одредува конечната содржина на алкохол и органолептичките карактеристики на виното. *S. cerevisiae* најдобро се вклопува во ферментацијата, па затоа во моментот претставува сој кој главно се користи како чиста култура квасец од производителите на вино (Хелмут Кениг, Готфрид Неден, Јурген Фролих, 2009).

2.2.4.4. Влијанието на квасците врз бојата на вината

Бојата е еден од основните параметри што го одредува квалитетот на црвените вина и првиот објективен показател за квалитетот на белото вино. Првично бојата на црвените вина во целост се должи на мономерните антоцијани, екстрахирани од покожицата на грозјето за време на ферментацијата, во форма на флавоидни катјони (црвени), хиноидни анхидро феноли и други форми добиени со поврзување и копијментација со други феноли. За време на одлежувањето и стареењето на виното, антоцијаните учествуваат во бројни процеси на кондензација, како резултат на што се формираат нови олигомери и полимерни пигменти кои претставуваат постабилни структури и вршат промени на првичната црвена боја кон темноцрвени рубин нијанси (Ribèreau-Gayon, 1982).

Влијанието на винските квасци врз бојата на црвените вина е билатерално, од една страна квасците ја забрзуваат екстракцијата на гроздовите антоцијани за време на ферментацијата, во зависност од нивниот капацитет за формирање на алкохол. Освен тоа помагаат во формирањето на

стабилни антоцијани за време на одлежувањето и стареењето на виното. Од друга страна, сепак квасците можат да предизвикаат разложување на антоцијаните и да учествуваат во различни реакции на пигментите кои водат до загуба на бојата.

Saccharomyces cerevisiae содржат пектинази (полугалактуронози). Тие ја катализираат хидролизата на пектинот во покожицата, што фаворизира екстракција на антоцијани. Овие ензими се активираат во почетните фази на ферментација. Секундарните производи добиени за време на ферментацијата од квасците учествуваат во формирањето на антоцијани.

β -глюкозидазната активност на сојот *S. cerevisiae* има позитивен ефект врз аромата на виното, ослободувајќи испарливи гликозиди, но може да има негативен ефект врз бојата на виното бидејќи антоцијанидините што се добиваат се со понестабилна форма и лесно се разградуваат за време на одлежувањето на виното. Друго негативно влијание на квасците врз бојата е адсорбирањето на антоцијанините врз клеточниот ѕид.

Поради сите горенаведени причини влијанието на сојот квасци на фенолниот состав на виното веќе се смета за критериум при селекцијата на соеви квасци и истото треба да се зема во предвид при секоја селекција (Maria Monagas et al., 2007).

2.2.4.5. Влијание на квасците на полисахаридите од виното

За време на алкохолната ферментација и одлежувањето на вината, *Saccharomyces cerevisiae* ослободува различни полисахариди. Овие полисахариди за претежно манопротеини компоненти од клеточниот ѕид на клетката на квасецот (S. Escot et al., 2001).

Квасните манопротеини се протеини кои содржат над 90% шеќери, главно маноза кои се локализирани главно во повеќето надворешни слоеви на клеточниот ѕид на квасците. Тие сочинуваат 35-40% од сувата маса на

клетката. Поради јаглехидратната компонента манопротеините се однесуваат повеќе како полисахариди, отколку како протеини.

Кај *S. cerevisiae* глукановиот дел на манопротеините е главно составен од маноза и некои неутрални олигосахариди. Манопротеините имаат клучна улога во хемиската стабилизација на виното, со што го штитат од протеински заматувања и тартаратна нестабилност. Друга енолошка корист од манопротеините е нивната способност да апсорбираат охратоксин А, со што се намалува неговата концентрација во финалниот производ.

Манопротеините го стимулираат и растот на млечнокиселинските бактерии, што се должи на адсорпција на среднодолги масни киселини, продуцирани од квасците, а истите придонесуваат за бројни органолептички карактеристики преку задржување на ароматичните компоненти.

Исто ја намалуваат трпкавоста на виното, се погодни за пенливите карактеристики на пенливите вина со што го подобруваат телото и заобленоста на виното. За да се случи сето ова сепак прво треба да имаме сој на квасец, што природно има способност да продуцира високи количини манопротеини. Врз основа на геномна идентификација, веќе се утврдени методологии за селекција на вакви видови на квасци (Мануел Квирос и сор., 2010, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Треба да се има предвид исто така дека поради различниот поларитет и хидрофилноста или хидрофобноста на манопротеините од клеточниот ѕид, квасец ќелијата има способност да приведе или адсорбира кон себе различни молекули од виното, како испарливи компоненти, масни киселини и пигменти. Имајќи предвид колку е важна бојата за црвените вина, треба да се напомене дека дел од антоцианите се адсорбират по површината на квасец клетки и по укинувањето на талог по ферментација е можно да се набљудува блага загуба на боја. (А. Мората, 2003, цит. Според Илиева Ф., 2013).

2.2.4.6. Влијание на фенолни состојки на квасец

Многу фенолни соединенија се идентификувани во грозјето, ширата и виното. Тие играат клучна улога во органолептичките карактеристики на виното, придонесуваат за бојата, но исто така и за вкусот, како трпкавост, битерност, во одреден степен и за испарливите ароми на виното. Со оглед на интеракцијата помеѓу фенолите на грозјето и микроорганизмите проучувани се многу процеси, главно антиминобни.

За време на ферментацијата, во производството на црвени вина, зголемувањето на содржината на алкохол ја стимулира екстракцијата на феноли и боја. На почетокот на процесот повеќе фенолни соединенија се екстрахираат од покожицата, додека подоцна од семката (Цаков, 1959; Цаков, 1962, цит. Според Илиева Ф., 2013).

По завршувањето на ферментацијата тие претрпуваат како квантитативни, така и квалитативни промени кои зависат од карактеристиките на сојот квасец и технолошките услови (Nagal and Wulf, 1979; Oszmianski et al., 1986; Scudamore-Smith et al., 1990; Fischer und Strasser, 1999, (2); Бамбалов В. и Бамбалов К., 2003; Стојанов и др., 2004; Barra et al., 2005).

Најмногу феноли се екстрахираат до седмиот ден од ферментацијата, додека нивната концентрација почнува полека да се намалува. Во производството на црвени вина фенолните супстанции може да се намалат од 8 до 25% (Валујко, 1979 цит. Според Илиева Ф., 2013). Полимеризацијата на танини има позитивен ефект врз нивните вкусови.

По завршувањето на ферментацијата, клетките на квасецот што се адсорбираат на нивните клеточни ѕидови се заштитени од дејството на хидролитичките ензими. Во присуство на полифеноли, тие ја задржуваат топчестата форма на клетката и големината им е речиси непроменета, што е индикатор за забавување и спречување на клеточната автолиза, односно фенолите имаат функција на заштитни антиоксиданси против хидролитичките ензими (Salmon et al., 2003).

2.2.4.7. Влијание на квасците на испарливите компоненти на виното

Квалитетот на виното е засегнат од една страна од хемискиот состав на гроздовиот сок, а од друга страна од микробната флора за време на ферментацијата. Аромата е една од главните карактеристики што го одредува квалитетот и вредноста на виното. Вкупната ароматична содржина обично е 0,8-1,2 g / dm³. Аромата на виното е уникатна комбинација од испарливи компоненти кои потекнуваат од грозјето, нуспроизводи на алкохолната ферментација (ферментативни ароми) и нуспроизводи од одлежувањето на виното (постферментативни ароми).

Испарливата фракција во едно вино се состои од оцетна киселина, ацеталдехид, етилацетат, пропанол, изобутанол и 2- и 3-метилбутанол кои сочинуваат околу половина од вкупната количина испарливи состојки. Другата половина се состои од 600 до 800 различни состојки (ацетат, органски киселини, алкохоли, фенолни и хетероциклени соединенија, естери, лактоните, терпени и др.). Претставени се во многу мали количини кои ја дефинираат комплексноста на винскиот букет и воедно ја обезбедуваат специфичноста и карактерот на виното (Regodon-Mateos et al., 2006, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Важноста на секоја ароматична компонента во финалниот вкус на виното е поврзана со неговиот (составен) праг на сензација. Основниот пристап за одредување на „важни“ или силни влијанија се базира на активноста на аромата и концентрационата / прагната вредност. Аромите со ниска активност или мало влијание се сметаат за безначајни во целокупната сензорна перцепција. Голем број од испарливите компоненти се формирани и модулирани од квасците за време на алкохолната ферментација и значително влијаат врз букетот и севкупниот квалитет на виното. Испарливите компоненти синтетизирани од винскиот квасец вклучуваат високи алкохоли, испарливи киселини, ацетатни естери, етил естри и алдехиди.

Различни соеви на *S. cerevisiae* можат да произведат многу различни ароматични профили, дури и кога ферментацијата ќе биде иста. Тоа е така од една страна поради разликите на винските соеви квасци да ослободуваат одредени ароматични компоненти од прекурсорите, и од друга поради својата способност да синтетизираат различни испарливи деривати.

Изборот на вистинскиот сој е клучен за развивање на саканиот стил и профил на вино. Поради оваа причина, повеќето енолози преферираат да работат со селектирани видови на квасци. За производство на млади вина, производителите избираат соеви кои можат да продуцираат високи нивоа естери и ацетати потребни за постигнување на саканиот овошен вкус, така и ниски нивоа на високи алкохоли кои влијаат негативно на аромата на виното.

Од друга страна, користењето на автохтони видови квасци, освен дека го одржува биодиверзитетот, тие се подобро аклиматизирани на средината и нејзините услови и обезбедуваат приказ на типичните сензорни карактеристики на вината од даден регион.

2.2.5. Селекција на квасци

Во винарските визби општоприфатена е тезата дека за квалитетот на виното придонесуваат како квалитетот на грозјето, така и активностите на микробиолошката заедница за време на ферментацијата и винификацијата.

При спонтаната ферментација рано започнува брз развој на квасците, кои ретко припаѓаат на родот *Saccharomyces*, но поради брзиот пораст на алкохолната содржина, нивниот раст се потиснува и потоа ферментацијата на грозјето се извршува со соеви со висока алкохолна толеранција кои припаѓаат на родот *Saccharomyces*, а особено сојот *Saccharomyces cerevisiae* (Fleet, 2008).

Несахаромицетните квасци придонесуваат за букетот на виното, но поради својата ниска алкохолна толеранција силно се потиснати и по 4-от ден на ферментацијата, квасците од родот *Saccharomyces* стануваат доминантни.

Комерцијалните суви квасци *Saccharomyces* можат да бидат засеани во сок од грозје со цел да се воспостави поголема популација и да се врши процес на контролирана алкохолна ферментација. При сите случаи сепак е подобро да се користат локално селектирани соеви бидејќи тие се подобро аклиматизирани на условите во соодветниот регион, полесно ќе надвлдеат над природната микрофлора и би дале на самото вино специфични регионални карактеристики (Martini and Vaughan-Martini, 1990, цит. Според Илиева Ф., 2013).

Многу истражувања покажуваат дека природно ферментабилни сахаромицети можат да варираат од регион до регион и од година во година. Исто така постојат многу секундарни производи на ферментација и активноста на квасецот, кои придонесуваат за органолептиката и букетот на виното и нивната продукцијата директно зависи од сојот на квасец.

Постојат многу енолошки критериуми, според кои треба да се избере најсоодветниот сој квасец, меѓу кои најзначајни се: толеранција кон високи нивоа на алкохол, како и да можат да продуцираат такви, висока ферментациска активност, раст кај ниски и високи температури, раст при високи концентрации на шеќер, продукција на глицерол, отпорност на сулфур диоксид, ниски нивоа на продукција на водород сулфид, недостаток на продукција на амини, отпорност на токсини, добар ензиматичен профил (висока β -гликозидазна активност) и ниски нивоа на продуциран ацеталдехид (Perez-Coello et al., 1999).

Научниците од Универзитетот во Солун, Грција вршеле селекција на локални соеви *Saccharomyces cerevisiae*, учествувале во спонтана ферментација на бели и црвени вина од сортите Ксиномавро и Мускат Хамбург. Изолираните соеви квасци што ги користеле биле изолирани од ферментацијата на Опсимо едесис - ароматично неутрална сорта. Од две винарски визби во северна Грција се земено четири проби свеж гроздов сок, каде што е анализирана палетата на квасци во самиот сок. Од овие примероци, пред и по ферментацијата, се изолирани и идентификувани соевите на квасци. Направиле ензимски профил за да се види ензимскиот потенцијал на соевите. Испитувани се способноста за продукција на сулфуроводород, растот,

иницирањето на ферментацијата како процес, алкохолната толеранција, толеранција кон сулфур диоксид, влијание на температурата, формирање на биогени амини, присуство на аминокиселини.

Врз основа на сите овие анализи се избрани само 6 видови кои најдобро ги исполнуваат критериумите. Овие соеви можат единствено да придонесат за аромите кои произлегуваат од алкохолната ферментација. Исто така, се анализирани и испарливите компоненти на готовите вина. Исто така беше спроведена и дегустација. Резултатите од студијата покажуваат дека 94% од изолираните соеви, 110 припаѓаат на родот *Saccharomyces cerevisiae*. Првата фаза на селекција на соевите била според следните пет барани енолошки критериуми: непродуцирање на водород сулфид, минимално пенообразување, отпорност на $300\text{mg} / \text{dm}^3$ вкупен сулфуроводород, раст и започнување на ферментација при 12 vol% алкохол и раст кај $42\text{ }^\circ\text{C}$. Високата температура била избрана како критериуми, поради високите температури во Грција за време на гроздоберот и недостатокот на систем за ладење во малите винарии.

По овој тест остануваат 26 соеви, од кои како последица на тестот за продукцијата на биогени амини, низок остаток на шеќери и чувствителност кон токсини и Килер-соеви остануваат само шест. Тие се тестираат за производство на глицерол и испарливи киселини. Со гасна хроматографија беа идентификувани 17 различни испарливи компоненти, од кои повеќето естри поврзани со овошната и цветната арома. Како резиме може да се заклучи дека шесте изолирани соеви квасци, заедно или одделно, придонесуваат за овошните и тропски навестувања во аромата, кон полноста на телото и кон предавање на виното посакувани карактеристики како целина (Efstratios Nikolau et al., 2006).

Селекција на квасци од спонтана ферментација на вина и идентификација на одделни видови е направено и во реонот на Пловдив, Бугарија, од сортите Каберне Совињон и Мерло. До овој момент во Бугарија биле селектирани голем број соеви за производство на бели и црвени вина од различни области, но истите биле идентификувани по класични методи (Бамбалов, Спасов, Кр. Бамбалов, 2000).

Сепак, овој експеримент го користи тековниот PCR метод за идентификација со кој од 303 селектирани соеви се избрани само 53 соеви за понатамошни студии. Од сите нив, 52 се претпоставува дека му припаѓаат на *S. cerevisiae* и 1 сој на *S. bayanus*. Добиените резултати овозможуваат да се избираат соеви во полупроизводствени услови (Јвор Чобанов, Бамбалов, Спасов, Гюиу-Бенатие, Ерве Александър, 2005, цит. Според Илиева Ф., 2013).

2.2.5.1. Употреба на селектираните соеви квасци како култивирани видови во производство на вино

При контролирана ферментација селектираните соеви квасци обично се засеваат во количина која е доволна за постигнување на популации од 10⁵-10⁶ cells / ml во ширата. Ова количество обезбедува побрз старт, ја потиснува природната микрофлора и ја претвара културата во доминантна за да ја одржи ферментација со одредени посакувани карактеристики.

При спонтанa ферментација има ран и брз раст и развој на квасци, како *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Candida stellata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia* и др., кои често се развиваат во шира, но подоцна изумираат, додека постепено *Saccharomyces cerevisiae* стане доминантен вид кој ја води и ја завршува ферментацијата.

Критичниот момент за спонтанa алкохолна ферментација е околу 4 vol% алкохол, кога несaхаромицетните квасци почнуваат да изумираат, а сахаромицетните почнуваат да доминираат. Во секој случај, доминацијата на *S. cerevisiae* не гарантира успешна ферментација. Ова, исто така, зависи од генетските карактеристики на видот.

2.2.5.2. Мешани култури за стартери

Во процесот на производство на вино, составот на ароматичните компоненти зависи пред сè од: квасците, животната средина (клима, почва),

условите на одгледување на грозјето, винификацијата, рН, количеството на сулфур диоксид, аминокиселините и малолактичната ферментација. Ферментацијата како процес во индустриското производство на вино, во денешно време се однесува главно на селектирани starter култури, соеви на *Saccharomyces cerevisiae*, за разлика од традиционалната спонтана ферментација, која се потпира на природната микрофлора по грозјето и во винаријата.

Покрај бројните предности од користењето на чисти култури *Saccharomyces*, на вината произведени со само еден сој им недостасува комплексност во аромата и вкусот, како и стилски разлики во различни реколти поради локални соеви (Lambrechts and Pretorius, 2000).

Несахаромицетните соеви го подобруваат букетот на виното, но не се во состојба да ја завршат докрај ферментацијата, поради својата ниска толеранција за етанол. Поради тоа многу автори се почесто препорачуваат користење на мешани култури сахаромицетни и несакхаромицетни култури применети истовремено или последователно.

Во последните години сè почесто се користат соеви несакхаромицетни во додаток на сахаромицетни култури се со цел да предизвикаат спонтана ферментација без ризик од расипување на виното или предвремено прекинување на ферментацијата (Fernando Viana et al, 2007 по Jolly et al. 2003, Romano et al., 2003). Многу видови на несакхаромицетни квасци се забележани во шира што ферментира, како на пример: *Hanseniaspora guilliermondii*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia anomala*, *Candida stellata*, *Torulaspota delbrueckii*, *Candida valida*, *Brettanomyces*, *Rodotorula*, *Deckera*, итн.

Метаболичките интеракции помеѓу *S. cerevisiae* и не-*Saccharomyces* за време на ферментацијата можат да покажат позитивно или негативно влијание на растот и ферментациското делување на квасците. Како позитива може да се дефинира интеракцијата помеѓу фруктофилните несакхаромицетни и гликофилните сахаромицети (Cianni and Fratichenti, 1999).

Меѓу сите ферментациски метаболити, естерите се оние, кои даваат најголем придонес кон комплексноста на аромата и букетот на виното. Етил

естрите се поврзани со овошните ноти, ацетатните естери на вишите алкохоли се одговорни за тропските нијанси. Ацетатните естери, како етилацетат, изоамилацетат, 2-фенилетилацетат, се споменуваат како важни состојки на органолептичкиот профил на виното. Овие компоненти во голема мера се продуцираат од несахаромицетните соеви квасец.

Научници од Универзитетот во Валенсија, Шпанија прават експеримент во кој ја истражуваат можноста за образување естри на 38 соеви од несахаромицети и од 8 комерцијални соеви *Saccharomyces cerevisiae*. Резултатите покажуваат дека *Hanseniaspora* произведуваат најголем дел од естри со преовладување на 2-фенилацетат, проследени од *Pichia* кој има слични нивоа на естеровобразување, но со преовладување на изобутилацетат и изоамилацетат. Сахаромицетните квасци покажуваат високи нивоа на формирање на етил естер.

Што се однесува до несаканите ароматични компоненти, како што се водород сулфид и испарливи фенолни соединенија, истражувањето покажало дека два видот *P. membranifaciens* не произведува сулфид. Од 8 комерцијални соеви *Saccharomyces*, се покажа просечно ниво на водород сулфид.

Во однос на ферментацијата, позитивен ефект од користењето на мешани култури е различноста во потрошувачката на гликоза и фруктоза од сахаромицетните и несахаромицетните соеви. Истражувањата покажаа дека резидуалните шеќери во виното имаат фруктофилна природа, поради фактот што сахаромицетите имаат афинитет на гликоза и се деградираат преференцијално. Истражувањето покажало дека сите 8 комерцијални сахаромицетни соеви се гликофилни, а од несахаромицетите *H. uvarum* и *H. guilliermondii* се нагласено фруктофилни, а повеќето од останатите ги разградуваат гликозата и фруктозата во речиси еднакви количества (Fernando Viana et al., 2007).

3. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

Квалитетот на произведеното вино во голема мера зависи од примената на селекциониран квасец во процесот на алкохолна ферментација. Во денешно време во производството на вино се користат претежно чисти култури селекционирани вински квасци, но последниве години постои сè поголем интерес кај научниците и производителите на вино за автохтони соеви квасци. По извршената селекција на автохтони соеви квасци со добри карактеристики, истите можат успешно да се користат во производството на вино.

Основната цел на ова истражување е утврдување на различните карактеристики помеѓу автохтоните и комерцијалните соеви квасци врз различните сорти на грозје и нивното влијание врз сортните карактеристики на произведеното вино.

Основна цел на ова истражување е:

- Утврдување и проучување на селекционираните видови квасци од Тиквешкото виногорје за производство на црвени вина од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон;
- Утврдување на влијанието на различните соеви квасци (автохтони и комерцијални) врз хемиските карактеристики на вината произведени од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон;
- Утврдување на корелацијата помеѓу автохтони и комерцијални соеви квасци врз хемиските карактеристики на вината произведени од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон;
- Утврдување на дескриптивна статистика за вината произведени од овие две сорти на грозје, зависно од влијанието на автохтоните или комерцијалните соеви квасци;
- Утврдување на разликата во хемискиот профил на вината произведени од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон, со примена на автохтони и комерцијални соеви квасци во првата година на истражувањето 2016 и следната година на одлежувањето на виното, 2017.

4. МЕТОДИ НА ИСТРАЖУВАЧКАТА РАБОТА

Методолошките постапки кои се користени за реализирање на поставените цели се поделени на полски и лабораториски, зависно од местото каде се извршувани работите.

Научно-истражувачката работа е спроведена во периодот од 2016 до 2017 година. Лабораториската обработка на материјалот е извршена во Лабораторијата за микробиологија и физичко-хемиска анализа, при ВВ “Тиквеш” АД Кавадарци.

Во овој магистарски труд, главно се детерминира влијанието на автохтоните и комерцијалните соеви квасци, врз производството на вино од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон, одгледувани на локалитетот Црвени Брегови, во близина на Неготино. Локалитетот каде што се одгледуваат лозовите насади е на надморска висина од 250 m.

Грозјето од овие две сорти Вранец и Каберне Совињон е обрано во технолошка зрелост и преработено во услови на микровинификација по класичната технолошка постапка за производство на црвени вина при услови на мацерација и ферментација со сулфитирање.

Главна цел е да се утврди влијанието на различните соеви квасци (автохтони и комерцијални) врз хемиските карактеристики на вината произведени од сортите Вранец и Каберне Совињон.

Утврдување и проучување на селектираните видови квасци од Тиквешкото виногорје, F-8 и F-78, за производство на регионални црвени вина од овој регион.

4.1. Полски испитувања

Оваа истражување беше спроведено во текот на две сезони во периодот од 2016 до 2017 година. Во текот на 2016 година беше извршена бербата на грозјето и истата година беше произведено виното, додека во почетокот од 2017 година се следеше динамиката на хемиската структура и состојбата на вината. Кон крајот на месец март, 2017 година виното беше сместено во дрвени садови каде што беше следен неговиот развој. Во овој магистарски труд, главно се детерминира влијанието на автохтоните и комерцијалните соеви квасци, врз производството на вино од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон, одгледувани на локалитетот Црвени Брегови, во близина на Неготино. Локалитетот каде што се одгледуваат лозовите насади е на надморска висина од 250 m.

Грозјето беше обрано во технолошка зрелост, рачно, во гајби од 20 kg. Грозјето од сортата Вранец е набрано на 19-ти септември 2016 година, додека грозјето од сортата Каберне Совињон, е набрано на 28-ми септември 2016 година. Концентрацијата на шеќер во грозјето од сортата Вранец изнесува 247 g/L шеќер, додека грозјето од сортата Каберне Совињон, содржи 236 g/L шеќер.

После завршената берба, грозјето е транспортирано во домашната винарија каде што се преработува во услови на микровинификација по класичната технолошка постапка за производство на црвени вина при услови на мацерација и ферментација со сулфитирање.

Грозјето беше обработено уште истиот ден каде што беше одвоено зрното од гроздинката. Гмечењето на грозјето беше извршено со гроздомелачка и му беше додадено SO₂ во форма на винобран K₂S₂O₅ (20 mg/kg). Гроздовата каша беше сместена во 20 L PET садови (галони) погодни за алкохолна ферментација. Два часа подоцна, во гроздовата каша беше инокулиран соодветниот квасец. Во првиот сад беше инокулиран автохтониот квасец F-8, во вториот сад автохтониот квасец F-78, додека во третиот сад беше инокулиран третиот комерцијален квасец D-80 (Lallemend). Во сите три сада беше инокулиран квасец во доза од 0,2 g/L.

Периодот за мацерација на вината од двете сорти изнесува 16 дена. Во текот на мацерацијата на гроздовата каша беше вршено промешување, односно потопување на зрната со течност, претходно исцедена од садот каде што мацерира гроздовата каша.

4.2. Лабораториски испитувања

На крајот од процесот алкохолна ферментација извршивме хемиска анализа на испитуваните вина, со што ја определивме содржината на алкохол, редукивен шеќер, вкупни и испарливи киселини, SO₂, рН, вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), како и интензитет на боја (CI). Направена беше и органолептичка анализа на испитуваните вина. Врз основа на тоа беше утврдено на влијанието на различните соеви квасци (автохтони и комерцијални) врз хемиските карактеристики на вината произведени од сортите Вранец и Каберне Совињон.

Лабораториската обработка на материјалот е извршена во Лабораторијата за микробиологија и физичко-хемиска анализа, при ВВ “Тиквеш” АД Кавадарци.

Лабораториската анализа на содржината на алкохол во произведените вина беше извршена ебулиометриски со Дујардин-Салерон ебулиометар, додека концентрацијата на редукивен шеќер беше детектирана со методот на Шорл (Schoorle method). Детерминацијата на вкупни киселини беше извршена со метод на неутрализација со помош на натриум хидроксид, каде што со количината на потрошена база се одредува концентрацијата на вкупни киселини, во овој случај изразена преку g/L винска киселина.

Детерминацијата на испарливи киселини, беше извршено преку метод на дестилација, каде што дестилатот подоцна се неутрализира со натриум хидроксид, а врз основа на потрошениот волумен од базата се пресметува содржината на испарливи киселини во виното, изразени во г/л оцетна киселина. Дестилацијата се одвива во струја од водна пара поради што се овозможува целата оцетна киселина да помине во дестилатот.

За определување на рН, на виното беше користен рН метар, претходно калибриран со пуферски раствор. Со помош на електродата од рН метарот директно се отчитува рН вредноста на виното.

Интензитетот на бојата (IC) беше измерен спектрофотометриски на 420 nm (жолта боја), 520 nm (црвена боја), 620 nm (сина боја) со УВ спектрофотометар. Детерминацијата на вкупни полифеноли, беше извршена со помош на метод на Фолин-Чиколтеу со мерење на апсорбанца на бранова должина од 765 nm. За анализа на антоцијани, виното беше разредено со раствор од етанол / вода / HCL = 70/30/1 и апсорпцијата беше измерена на 540 nm.

4.3. Статистичка обработка на податоците

Преку статистичка обработка на податоците во овој магистерски труд е прикажана корелацијата помеѓу анализираните хемиски параметри на виното од сортата на грозје Вранец и сортата на грозје Каберне Совињон со различните соеви на квасци.

Дескриптивната статистика за вината произведени од сортата на грозје Вранец и Каберне Совињон е прикажано преку статистичка обработка на добиените резултати со примена на софтверски пакет за статистичка обработка на резултати SPSS 19.

Со помош на Пирсонов коефициент на корелација (ρ) добиен од корелацијата помеѓу хемиските карактеристики на вината од двете сорти на испитување со трите различни соеви на квасци F-8, F-78 и D-80, е прикажана корелационата поврзаност помеѓу овие варијабели.

4.3.1. Пирсонов коефициент на корелација

Еден од првите научници кој се занимавал и ја проучувал поврзаноста меѓу појавите бил Англичанецот Сер Францис Галтон (1822-1911). Неговата идеја понатаму ја развил Карл Пирсон и затоа се нарекува Пирсонов коефициент на корелација. Во статистиката, Пирсоновиот коефициент на корелација претставува степен на поврзаност меѓу две променливи појави и може да има вредност од -1 до 1.

Ако $\rho = 1$, значи дека постои перфектна линеарна зависност и со растењето на едната променлива расте и другата променлива. Коефициент на корелација кој се движи меѓу 0,9 и 1 значи многу висока поврзаност. Ако пак $\rho = -1$ значи дека постои перфектна линеарна зависност, но со растење на едната променлива опаѓа другата променлива.

5. РЕЗУЛТАТИ

Ова истражување беше спроведено во текот на две сезони во периодот од 2016 до 2017 година. Во текот на 2016 година беше извршена бербата на грозјето и истата година беше произведено виното, додека во почетокот од 2017 година се следеше динамиката на хемиската структура и органолептичката состојба на вината. Кон крајот на месец март, 2017 година виното беше сместено во дрвени садови каде што беше следен неговиот развој.

Поради тоа што за производна година се смета годината во која е извршена бербата, во овој магистерски труд во поглед на климатските услови се земени параметрите: средно месечна температура на воздухот изразена во °C како и месечната сума на врнежи во mm, параметри преку кои најсликовито може да се опишат карактеристиките на годината. Овие параметри се измерени во Неготино, Р. Македонија.

Анализата на влијанието на временската состојба врз грозјето добиено од сортите Вранец и Каберне Совињон во производната 2016 година е направена врз основа на податоци од оригиналната документација на Управата за хидрометеоролошки работи.

Табела 2. Климатски параметри за 2016 година, средно месечна температура (°C) и месечна сума на врнежи (mm) за град Неготино
Table 2. Climate parameters for 2016 year, average monthly temperature (°C) and monthly amount of precipitation (mm) for the city of Negotino

	2016												Просечна
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
Ср. месечна температура (°C)	3,4	10,7	10,2	16,6	17,7	24,3	26,1	24,5	19,6	14,3	8,2	0,9	13,5
Месечна сума на врнежи (mm)	44,6	18,7	123,9	41,4	78,9	24,3	36,5	66,5	45,2	23	36,4	0	536,3

Во овој магистарски труд, главно се детерминира влијанието на автохтоните и комерцијалните соеви квасци, врз производството на вино од сортите Вранец и Каберне Совињон, одгледувани на локалитетот Црвени

Брегови, во близина на Неготино. Локалитетот каде што се одгледуваат лозовите насади е на надморска висина од 250 m.

Грозјето беше обрано во технолошка зрелост, рачно, во гајби од 20 kg. Грозјето од сортата Вранец е набрано на 19-ти септември 2016 година, додека грозјето од сортата Каберне Совињон, е набрано на 28-ми септември 2016 година. Концентрацијата на шеќер во грозјето од сортата Вранец изнесува 247 g/L шеќер, додека грозјето од сортата Каберне Совињон, содржи 236 g/L шеќер.

Табела 3. Карактеристики на грозјето од сортата Вранец и Каберне Совињон, 2016 берба

Table 3. Characteristics of the grapes of Vranec and Cabernet Sauvignon variety, at 2016 harvest

Сорта на грозје	Берба на грозје	Содржина на шеќер g/L	Вкупни киселини g/L	pH
Вранец	19.09.2016	247	6,70	3,54
Каберне Совињон	28.09.2016	236	7,10	3,40

После завршената берба, грозјето е транспортирано во домашната винарија каде што се преработува во услови на микровинификација по класичната технолошка постапка за производство на црвени вина при услови на мацерација и ферментација со сулфитирање.

Грозјето беше обработено уште истиот ден каде што беше одвоено зрното од гроздинката. Гмечењето на грозјето беше извршено со гроздомелачка и му беше додадено SO₂ во форма на винобран K₂S₂O₅ (20 mg/kg). Гроздовата каша беше сместена во 20 L PET садови (галони) погодни за алкохолна ферментација. Два часа подоцна, во гроздовата каша беше инокулиран соодветниот квасец. Во првиот сад беше инокулиран автохтониот квасец F-8, во вториот сад автохтониот квасец F-78, додека во третиот сад беше инокулиран третиот комерцијален квасец D-80 (Lallemend). Во сите три сада беше инокулиран квасец во доза од 0,2 g/L.

Периодот за мацерација на вината од двете сорти изнесува 16 дена. Во текот на мацерацијата на гроздовата каша беше вршено промешување,

односно потопување на зрната со течност, претходно исцадена од садот каде што мацерира гроздовата каша.

Алкохолната ферментација при производство на вината од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон беше контролирана на температура од 23-25 °C. Во текот на денот три пати се контролираше температурата на гроздовата каша.

После завршената мацерација се изврши преточување, односно одвојување на виното од гроздовата каша (комиње) во посебни садови 10 L PET садови (галони). После 48 часа повторно беше извршен преток на виното и истото беше сместено во стаклени садови и беше досулфитирано до 30 mg/L слободен SO₂. За веќе произведените вина од сортата на грозје Вранец и Каберне Совињон извршивме хемиска анализа со што ја анализиравме содржината на алкохол, редукивен шеќер, вкупни и испарливи киселини, SO₂, pH, вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), како и интензитет на боја (CI).

Кон крајот на месец март, 2017 година виното беше сместено во дрвени садови каде што беше следен неговиот развој. Во овој период беше вршена редовна хемиска контрола на вината со што истите беа корегирани со SO₂ со одредени дози.

5.1. Динамика на алкохолната ферментација

Во зависност од различните соеви на квасци што се користат во ова истражување, континуирано беше следена динамиката на алкохолна ферментација на испитуваните вина од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон. Два часа после одделувањето на зрното од гроздинката, во гроздовата каша беше инокулиран соодветниот квасец. Во првиот сад беше инокулиран автохтониот квасец F-8, во вториот сад автохтониот квасец F-78, додека во третиот сад беше инокулиран третиот комерцијален квасец D-80 (Lallemand). Во сите три сада беше инокулиран квасец во доза од 0,2 g/L.

Периодот за мацерација на вината од двете сорти изнесува 16 дена. Во текот на мацерацијата на гроздовата каша беше вршено промешување, односно потопување на зрната со течност, претходно исцадена од садот каде што мацерира гроздовата каша. Алкохолната ферментација при производство на вината од сортите Вранец и Каберне Совињон беше контролирана на температура од 23-25 °C. Во текот на денот три пати се контролираше температурата на гроздовата каша.

Табела 4. Динамика на алкохолна ферментација на виното од сортата Вранец по денови

Table 4. Dynamics of alcoholic fermentation of the wine produced by Vranec grape variety, day by day

№	Сој кв.	Концентрација на шеќер (g/L), по денови															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.	F-8	247	236	215	204	170	140	85	77	69	55	39	23	16	7	5	3
2.	F-78	247	220	195	160	134	92	72	65	51	34	21	10	8	6	4	2
3.	D-80	247	240	221	210	190	174	99	84	72	63	44	30	19	11	7	3

Кај гроздовата каша од сортата Вранец со примена на автохтониот квасец F-78, во текот на алкохолната ферментација се забележува директен, побрз пад на концентрацијата на шеќер, за разлика од D-80, каде што има поблаг пад на динамиката на алкохолната ферментација.

Со оваа динамика на алкохолна ферментација добивме повисоко квалитетни вина бидејќи нема некоја драстична разлика во текот на претварањето на шеќерот во алкохол.

Од график 1. можеме да забележиме дека алкохолната ферментација како главен процес во ова истражување протекува со интензивно намалување на концентрацијата на шеќер со завршување во временски период од 16 дена.

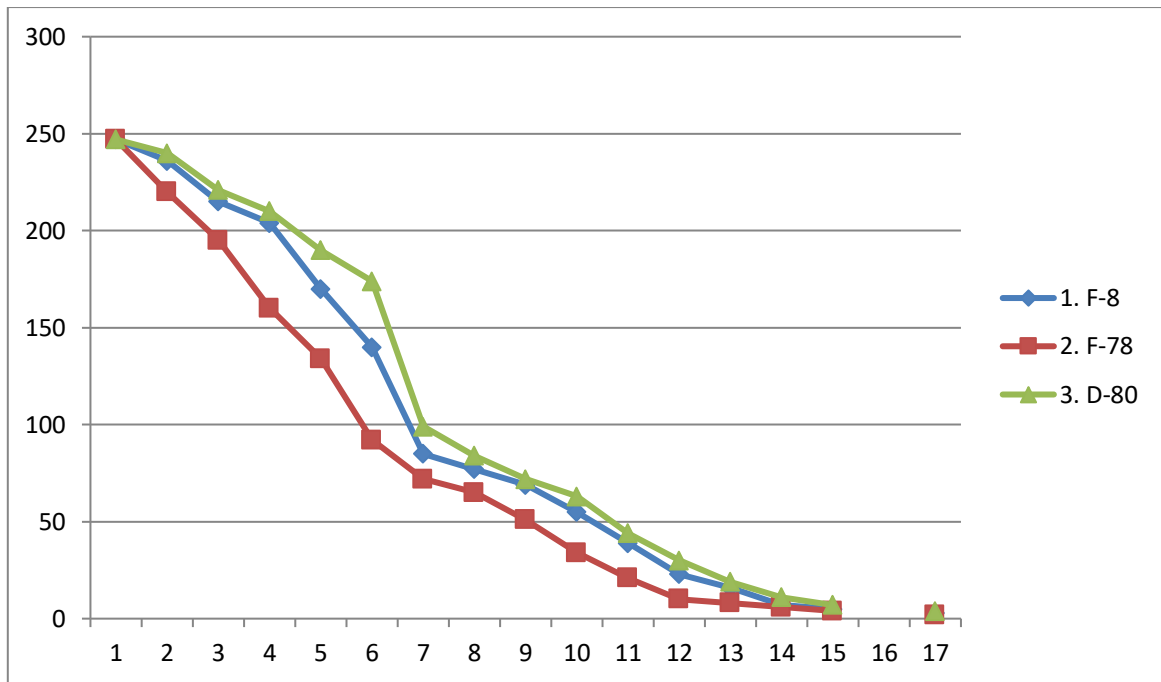


График 1. Графички приказ на динамиката на алкохолната ферментација на виното од сортата Вранец, по денови
 Graph 1. Graphic display of the dynamics of alcoholic of the wine produced by Vranec grape variety, by days

Состојбата со остаток на шеќер во последниот ден од ферментацијата се движи во граница од 2-3 g/L. Со сигурност можеме да заклучиме дека се работи за суви вина.

Доаѓаме до заклучок дека сите испитувани квасци, без разлика дали станува збор за автохтоните F-8 / F-78 или пак се работи за комерцијалниот квасец D-80, ја спроведуваат алкохолната ферментација до крај.

Алкохолната ферментација и кај двете сорти на вина беше спроведена при одредени температурни осцилации, но не поминуваше надвор од температурниот интервал од 23-25 °C. Во текот на денот три пати се контролираше температурата на гроздовата каша.

Табела 5. Динамика на алкохолна ферментација на виното од сортата Каберне Совињон по денови

Table 5. Dynamics of alcoholic fermentation of the wine produced by Cabernet Sauvignon grape variety, day by day

№	Сој кв.	Концентрација на шеќер (g/L), по денови															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.	F-8	236	221	214	202	194	188	183	170	151	79	65	47	21	13	7	3
2.	F-78	236	218	198	185	179	164	151	120	98	74	51	32	18	9	5	2
3.	D-80	236	231	228	211	202	196	187	176	163	89	73	65	38	21	11	3

Со истата технолошка постапка за производство на црвени вина и кај сортата Каберне Совињон, берба 2016, беше извршена контролирана алкохолната ферментација на гроздовата каша со инокулација на двата соеви автохтони квасци F-8 и F-78 и комерцијалниот D-80 (Lallemand) во посебни садови за ферментација. Исто како и кај виното од сортата Вранец, беше следена температурата при алкохолната ферментација со што беше следена и динамиката последователно секој ден.

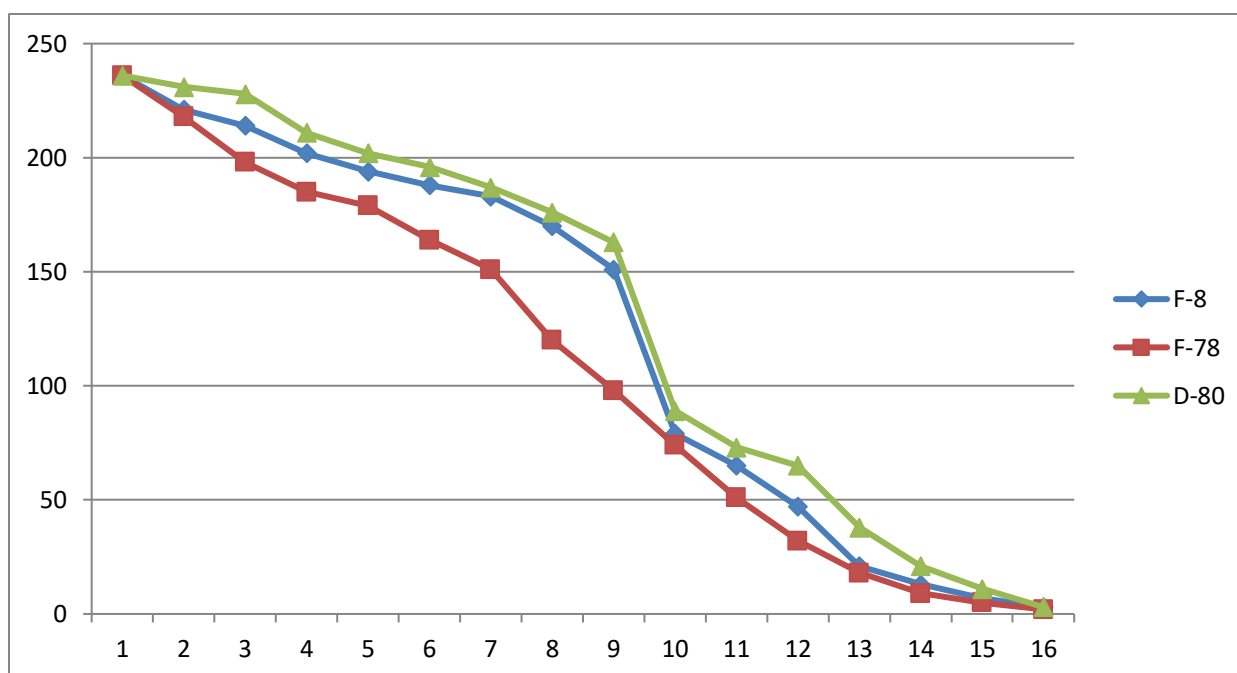


График 2. Графички приказ на динамиката на алкохолната ферментација на виното од сортата Каберне Совињон, по денови

Graph 2. Graphic display of the dynamics of alcoholic of the wine produced by Cabernet Sauvignon grape variety, by days

Концентрацијата на редуктивниот шеќер во сите испитувања е во границата под 3 g/dm³.

Содржините на алкохол варираат во одредени тесни граници од 13,97-14,68 % vol, за вината произведени од сортата на грозје Каберне Совињон и 14,11 до 14,96 % vol, за вината произведени од сортата на грозје Вранец.

5.2. Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз виното произведено од сортата на грозје Вранец

Главните хемиски параметри како: алкохол, вкупни киселини, испарливи киселини, рН, слободен и вкупен SO₂, беа детерминирани со примена на методи за анализа на вино и гроздова шира (OIV методи).

Виното Вранец беше произведено од претходно изолирани автохтони соеви на квасци F-8 и F-78. Новоизолираните соеви на квасци се добиени при спонтанa ферментација на грозјето од сортата Вранец и Каберне Совињон колекционирани од десет различни микро-региони во Македонија. И двата автохтони квасци F-8 и F-78 се изолирани од винова лоза одгледувана во микро-регионот „Барово“, каде што виновата лоза од овој регион се покажала како најбогат извор на соеви на автохтони квасци. (Илиева и сор., 2016). Изолацијата на квасци претходно, била извршена според методот на КОН (Vambalov et al., 1996).

Виното од сортата Вранец, каде што во процесот на алкохолна ферментација беше инокулиран автохтониот сој квасец F-8, има највисок % на алкохол (14,96). Виното каде што беше инокулиран другиот сој автохтон квасец F-78, има најмал % на алкохол (14,11).

Виното произведено со автохтониот квасец F-8 и комерцијалниот D-80 имаат иста содржина на шеќер (2,2 g/L).

Најголема концентрација на вкупни киселини има во виното произведено со комерцијалниот квасец D-80 (7,34 g/L) и рН= 3,24, додека најмала

концентрација на вкупни киселини има во виното произведено со квасецот F-8 (6,89 g/L) и pH=3,32.

Вината произведени со автохтониот квасец F-8 и комерцијалниот квасец D-80, имаат највисока концентрација на испарливи киселини (0,68/0,61).

На следнава табела 6. е даден детален приказ на хемиските параметри на виното од сортата Вранец произведен со три различни соеви на квасци.

Табела 6. Хемиски карактеристики на виното од сортата Вранец произведено со автохтоните квасци F-8, F-78 и комерцијалниот D-80
Table 6. Chemical characteristic of wine Vranec produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80

Вино	Квасец	Алкохол (% vol)	Шеќер (g/L)	Вк.кис. (g/L)	Испарливи кис. (g/L)	pH	Слободен SO ₂ (mg/L)	Вкупен SO ₂ (mg/L)
Вранец	F-8	14,96	2,2	6,89	0,68	3,32	24	80
Вранец	F-78	14,11	2	7,13	0,43	3,26	25	60
Вранец	D-80	14,53	2,2	7,34	0,61	3,24	27	70

Помеѓу трите вина од сортата на грозје Вранец, произведени од различни соеви на квасци, можеме да утврдиме дека постои одредена разлика во хемиските карактеристики и нивниот профил. Не постои одредена значителна разлика, поради фактот дека грозјето доаѓа од истиот насад, истиот локалитет. Деновите на мацерација се исти (16 дена) за сите три вина. Една од причините е и истата контролирана температура во текот на процесот на алкохолна ферментација 23-25 °C.

На следниов графикон е даден приказ на хемиските карактеристики на вината од сортата на грозје Вранец, произведени со помош на автохтоните соеви квасци F-8, F-78 и комерцијалниот D-80.

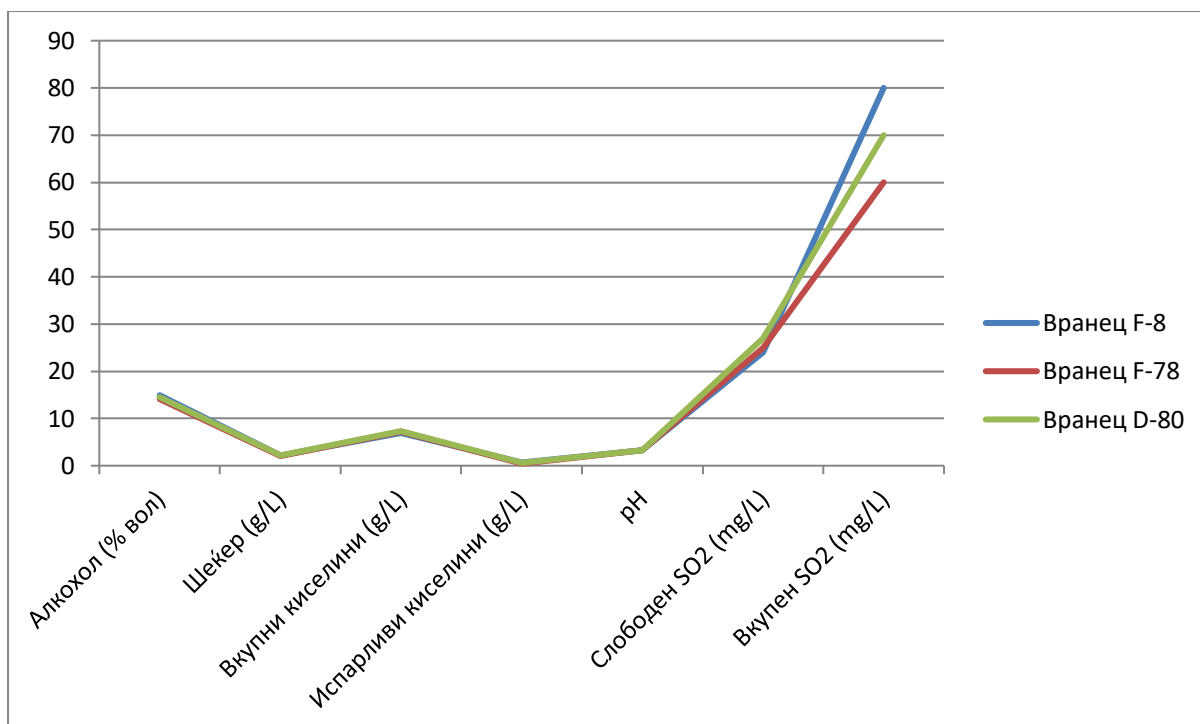


График 3. Графички приказ на хемиските карактеристики на виното од сортата Вранец произведено со автохтоните квасци F-8, F-78 и комерцијалниот D-80
 Graph 3. Graphic display of the chemical characteristic of wine Vranec produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80

5.3. Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз виното произведено од сортата на грозје Каберне Совињон

Грозјето од сортата Каберне Совињон е набрано на 28-ми септември 2016 година. Концентрацијата на шеќер во грозјето од сортата Каберне Совињон, изнесува 236 g/L шеќер.

Виното од сортата на грозје Каберне Совињон, беше исто како и претходно произведеното, од претходно изолирани автохтони соеви на квасци F-8 и F-78. Новоизолираните соеви на квасци се добиени при спонтанна ферментација на грозјето од сортата Вранец и Каберне Совињон колекционирани од десет различни микро-региони во Македонија. И двата автохтони квасци F-8 и F-78 се изолирани од винова лоза одгледувана во микро-регионот „Барово“, каде што

виновата лоза од овој регион се покажала како најбогат извор на соеви на автохтони квасци. (Илиева и сор., 2016). Изолацијата на квасци претходно, била извршена според методот на КОН (Bambalov et al., 1996).

На крајот од процесот алкохолна ферментација извршивме хемиска анализа на испитуваните вина, со што ја определивме содржината на алкохол, редуктивен шеќер, вкупни и испарливи киселини, SO₂, рН, вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), како и интензитет на боја (CI). Главните хемиски параметри како: алкохол, вкупни киселини, испарливи киселини, рН, слободен и вкупен SO₂, беа детерминирани со примена на методи за анализа на вино и гроздова шира (OIV методи).

Виното од сортата Каберне Совињон, каде што во процесот на алкохолна ферментација беше инокулиран автохтониот сој квасец F-78, има највисок % на алкохол (14,68). Виното, каде што беше инокулиран комерцијалниот квасец D-80, има најмал % на алкохол (13,97).

Во поглед на содржината на шеќер виното произведено со автохтоните квасци F-8 и F-78 имаат иста вредност (2,2 g/L), додека виното произведено со комерцијалниот квасец D-80 има приближно иста содржина на шеќер (2,2 g/L).

Најголема концентрација на вкупни киселини има во виното произведено со автохтониот квасец F-78 (6,29 g/L) и рН= 3,84, додека најмала концентрација на вкупни киселини има во виното произведено со квасецот F-8 (5,32 g/L) и рН=3,95.

Виното произведено со автохтониот квасец F-78 има највисока концентрација на испарливи киселини (0,65 g/L), додека најмала содржина на испарливи киселини има во виното произведено со автохтониот квасец F-8 (0,42 g/L).

На следнава табела 7. е даден детален приказ на хемиските параметри на виното од сортата Каберне Совињон произведен со три различни соеви на квасци.

Табела 7. Хемиски карактеристики на виното од сортата Каберне Совињон произведено со автохтоните квасци F-8, F-78 и комерцијалниот D-80

Table 7. Chemical characteristic of wine Cabernet Sauvignon produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80

Вино	Квасец	Алкохол (% vol)	Шеќер (g/L)	Вк.кис. (g/L)	Испарливи кис. (g/L)	pH	Слободен SO ₂ (mg/L)	Вкупен SO ₂ (mg/L)
К.Совињон	F-8	14,51	2	5,32	0,42	3,95	26	103
К.Совињон	F-78	14,68	2	6,29	0,65	3,84	28	83
К.Совињон	D-80	13,97	2,2	5,92	0,50	3,88	37	110

Помеѓу трите вина од сортата на грозје Каберне Совињон, произведени од различни соеви на квасци, можеме да утврдиме дека постои одредена разлика во хемиските карактеристики и нивниот профил. Не постои одредена значителна разлика, поради фактот дека грозјето доаѓа од истиот насад, истиот локалитет. Деновите на мацерација се исти (16 дена) за сите три вина. Една од причините е и истата контролирана температура во текот на процесот на алкохолна ферментација 23-25 °C.

Сепак за разлика од виното Вранец, овде постои поголемо отстапување кај алкохолот кај виното произведено со комерцијалниот квасец D-80 (13,97 % вол), за разлика од алкохолот кај F-8 и F-78 (14,51/14,68 % vol). Исто така, се забележува поголема разлика во поглед на вкупните киселини, каде што највисока вредност има кај виното Каберне Совињон произведено со квасецот F-78 (6,29 g/L), додека најмала е вредноста кај виното произведено со квасецот F-8 (5,32 g/L).

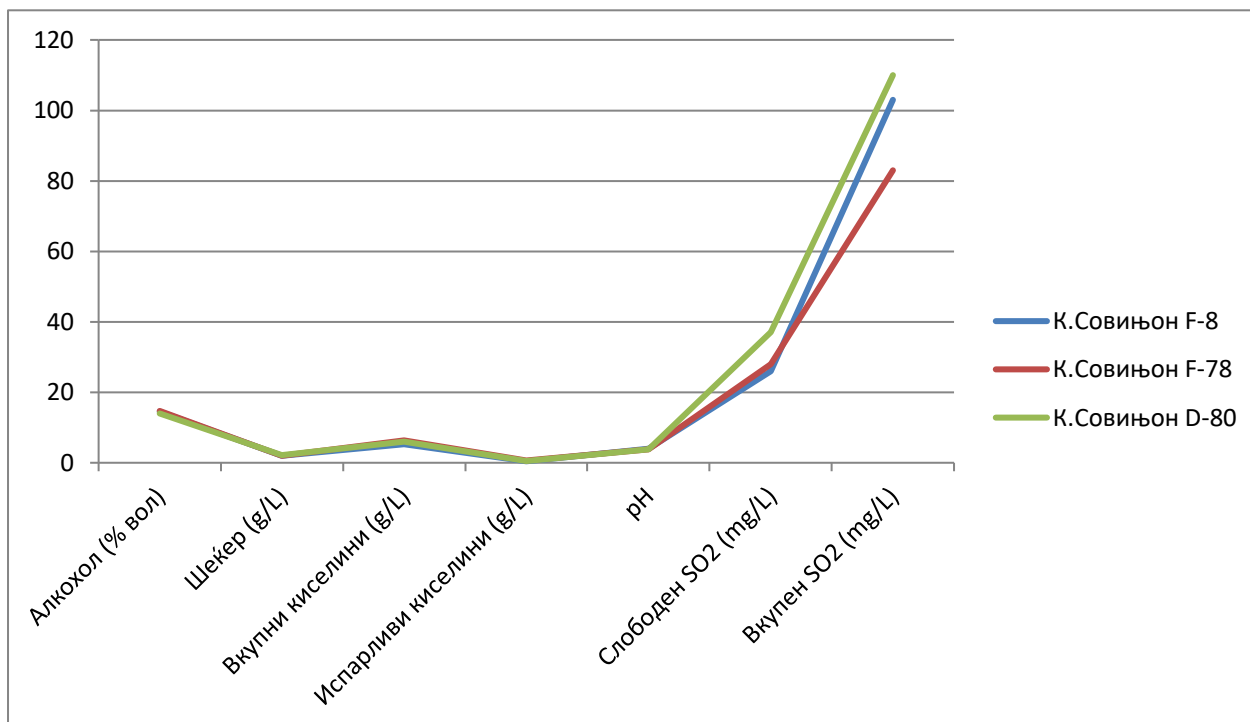


График 4. Графички приказ на хемиските карактеристики на виното од сортата Каберне Совињон произведено со автохтоните квасци F-8, F-78 и комерцијалниот D-80

Graph 4. Graphic display of the chemical characteristic of wine Cabernet Sauvignon produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80

5.4. Влијание на автохтоните соеви квасци (F-8 и F-78) и комерцијалниот сој квасец (D-80) врз полифенолите, антоцијаните и интензитетот на боја на вина од сортите Вранец и Каберне Совињон

Полифенолите се структурна класа на природни, вештачки и семивештачки органски соединенија коишто се карактеризираат со присуство на голем број фенолни структурни единици. Сите полифеноли имаат слична хемиска структура на прстените и истите се делат на четири различни групи, зависно од бројот на прстените и молекулите што се сврзани за тие прстени. Во тие четири групи спаѓаат: фенолна киселина, флавоноиди, стилбени и лигнини.

Бојата на црвеното грозје/вино се препишува на присуството на голема група на растителни пигменти, антоцијани. Овие соединенија се присутни во форма на гликозиди.

Главно кај црвените вина може да се најдат 5 антоцијанини. Во нив спаѓаат: делфинидин, малвидин, пеонидин, петунидин и цијанидин.

Концентрацијата на вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), интензитет на боја (CI) на вино од сортата Вранец, произведено од квасците F-8, F-78, D-80 со три повторувања е претставена во табела 8.

Табела 8. Содржина на вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), интензитет на боја (CI) на вино од сортата Вранец, произведено од квасците F-8, F-78, D-80 со три повторувања

Table 8. Content of total phenolics (TP), total anthocyanins (TA), color intensity (CI) in wine Vranec produced by yeasts F-8, F-78, D-80 of three replicates

		Вкупни полифеноли (TP) mg/L			Вкупни антоцијани (TA) mg/L			Интензитет на боја (CI)		
Вино	Квасец	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Вранец	F-8	1513	1512,2	1511,8	652,7	653,1	653,9	31,289	31,253	31,213
Вранец	F-78	1528,3	1525,4	1523,1	583,2	583,5	584,1	21,058	21,026	21,013
Вранец	D-80	1618,6	1617	1615,4	636,2	636,8	637,2	23,798	23,657	23,614

Од табела 8. се забележува дека содржината на вкупни полифеноли (TP) има највисока концентрација во виното произведено од комерцијалниот квасец D-80 (1618,6 mg/L), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-8 (1513 mg/L).

Во поглед на вкупните антоцијани (TA), имаат највисока концентрација во виното произведено од автохтониот квасец F-8 (652,7 mg/L), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-78 (583,2 mg/L).

Интензитетот на бојата е највисок кај виното произведено со автохтониот квасец F-8 (3,1289) и најмала вредност кај виното произведено со квасецот F-78 (2,1058).

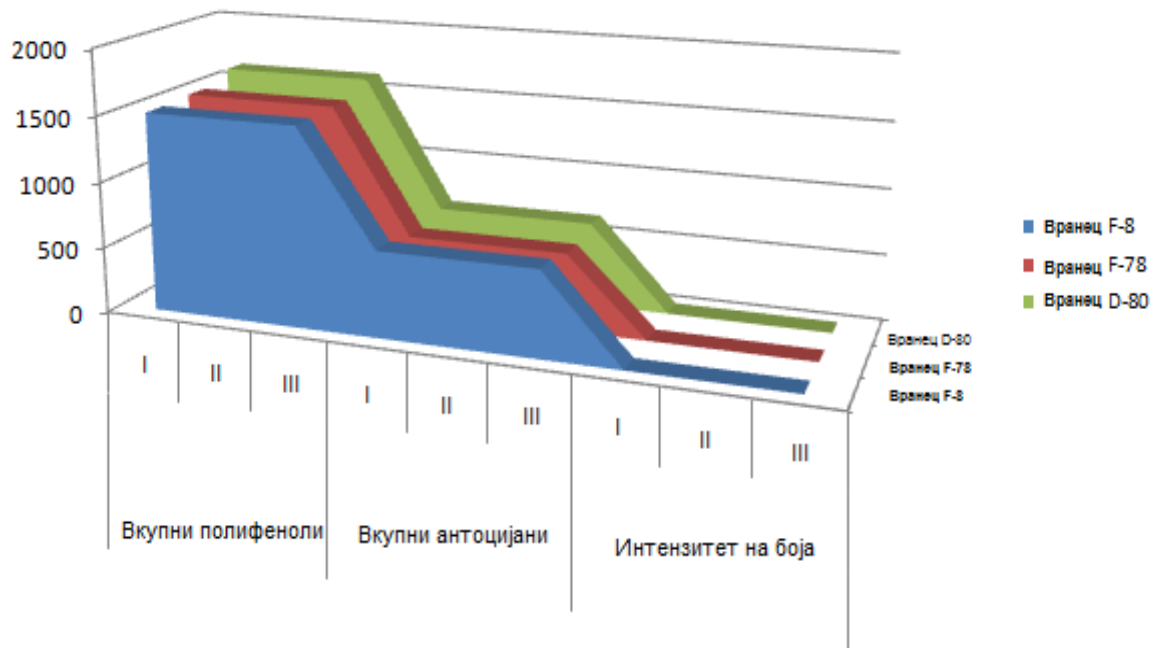


График 5. Графички приказ на содржина на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани, интензитет на боја во вино од сортата Вранец произведено од квасците F-8, F-78 и D-80 со три повторувања
 Graph 5. The graph shows the content of total phenolics (TP), total anthocyanins (TA), color intensity (CI) in wine Vranec produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80 of three replicates

На следнава табела 9. се забележува дека содржината на вкупни полифеноли (TP) има највисока концентрација во виното Каберне Совињон произведено од комерцијалниот квасец D-80 ($1611,6\text{ mg/L}$), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-78 ($1450,3\text{ mg/L}$).

Во поглед на вкупните антоцијани (TA), имаат највисока концентрација во виното произведено од автохтониот квасец D-80 ($572,1\text{ mg/L}$), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-78 ($470,4\text{ mg/L}$).

Интензитетот на бојата е највисок кај виното произведено со автохтониот квасец D-80 (3,2756) и најмала вредност кај виното произведено со квасецот F-78 (2,1021).

Табела 9. Содржина на вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), интензитет на боја (CI) на вино од сортата Каберне Совињон, произведено од квасците F-8, F-78, D-80 со три повторувања

Table 9 Content of total phenolics (TP), total anthocyanins (TA), color intensity (CI) in wine Cabernet Sauvignon produced by yeasts F-8, F-78, D-80 of three replicates

		Вкупни полифеноли (TP) mg/L			Вкупни антоцијани (TA) mg/L			Интензитет на боја (CI)		
Вино	Квасец	I	II	III	I	II	III	I	II	III
К.Сов.	F-8	1495,1	1494,5	1493,7	539,4	540,8	541,8	31,089	31,062	31,015
К.Сов.	F-78	1450,3	1449,6	1448,1	470,4	471,2	473,5	21,021	21,013	21,001
К.Сов.	D-80	1611,6	1610,6	1609,4	572,1	573,4	574,7	32,756	32,722	32,712

Од овие резултати може да заклучиме дека кај виното произведено од сортата на грозје Каберне Совињон се појавуваат помали концентрации на вкупни полифеноли (TP), за разлика од виното од сортата Вранец.

Интервалот на вредноста на вкупни полифеноли е некаде од 1450,3 mg/L до 1611,6 mg/L, каде што најниска е концентрацијата кај виното произведено со квасецот F-78, највисока кај виното произведено со квасецот D-80.

Исто и вкупните антоцијани (TA), имаат највисока концентрација во виното произведено од автохтониот квасец D-80 (572,1 mg/L), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-78 (470,4 mg/L).

Интервалот на вредноста на интензитет на боја е помеѓу (2,1013 – 3,2756), каде што највисока е вредноста кај виното произведено со автохтониот квасец D-80 (3,2756) и најмала вредност кај виното произведено со квасецот F-78 (2,1021).

Се забележува дека не постојат одредени значителни варијации помеѓу сите три повторувања, во однос на содржината на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја кај една сорта на вино, но постојат варијации од една до друга сорта на вино.

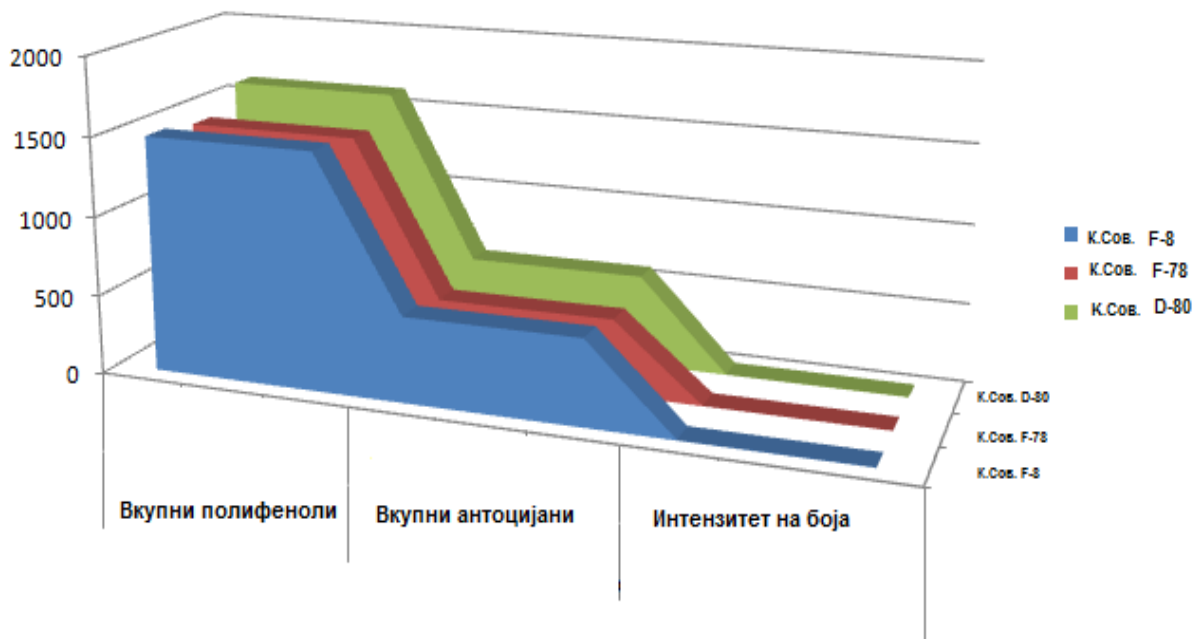


График 6. Графички приказ на содржина на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани, интензитет на боја во вино од сортата на грозје Каберне Совињон произведено од квасците F-8, F-78 и D-80 со три повторувања
 Graph 6. The graph shows the content of total phenolics (TP), total anthocyanins (TA), color intensity (CI) in wine Cabernet Sauvignon produced by indigenous strains of yeasts F-8, F-78 and commercial D-80 of three replicates

Во ова истражување, кај виното произведено од сортата на грозје Вранец, се забележува поголема концентрација на вкупни полифеноли за некаде околу 5 %, поголема концентрација на вкупни антоцијани за 5-10 %. Виното од сортата Вранец има поголем интензитет на боја, со што органолептички се работи за вина со интензивна темно-црвена рубин боја.

На следниот график е претставена варијацијата помеѓу двете сорти на вино, произведени со три различни квасци во текот на алкохолната ферментација. Со графичкиот приказ се забележува дека кај виното Каберне Совињон произведено со автохтониот квасец F-78 има најмала вредност на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја.

Кај виното Вранец произведено со комерцијалниот квасец D-80 има највисока концентрација на вкупни полифеноли, додека виното од сортата

Вранец произведено со автохтониот квасец F-8 има највисока вредност на вкупни антоцијани и интензитет на боја.

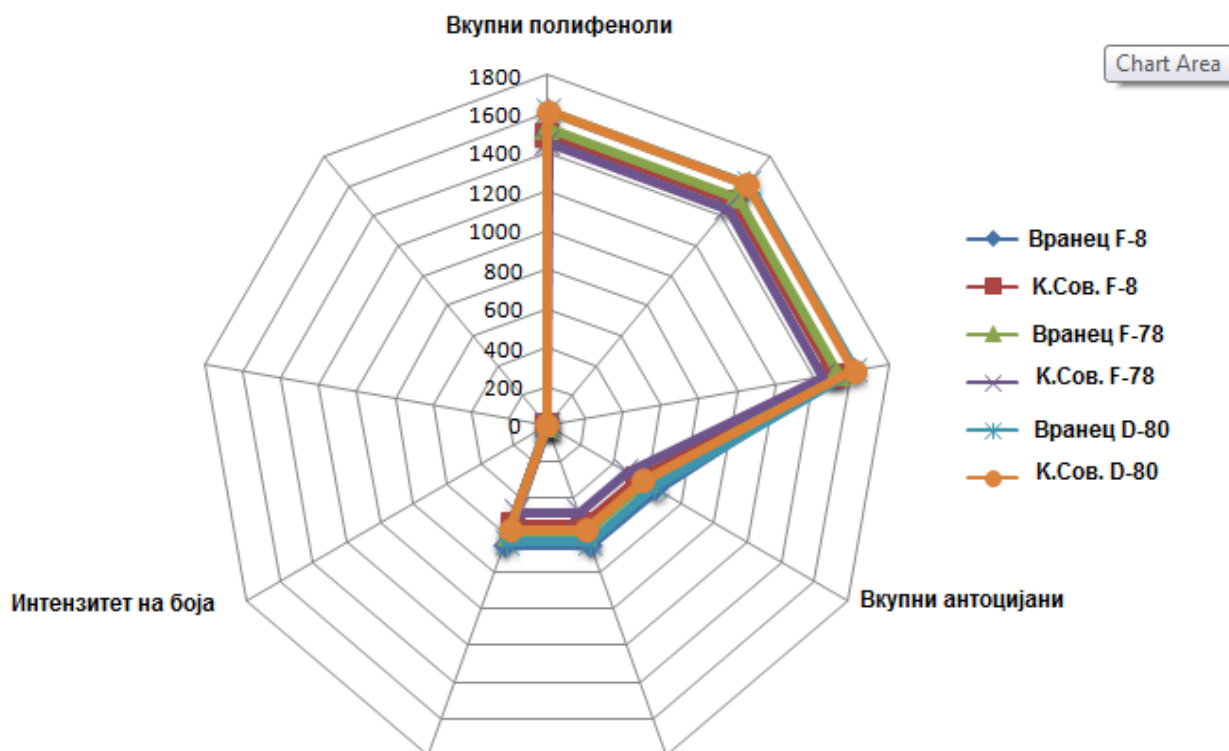


График 7. Графички приказ на содржина на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани, интензитет на боја на вината произведени од сортите Вранец и Каберне Совињон

Graph 7. The graph shows the content of total phenolics (TP), total anthocyanins (TA), color intensity (CI) for wines produced from grapes variety Vranec and Cabernet Sauvignon

5.5. Статистичка обработка на резултати

Добиените резултати од ова научно истражување статистички се обработени со користење SPSS статистички софтвер пакет 19. За анализа на податоците се пресметува Пирсонов коефициент на корелација.

Приказот на Пирсоновиот коефициент на корелација е добиен помеѓу две варијабли: хемиските параметри на виното од сортата Вранец и сојот на квасец во зависност дали виното е произведено од автохтони квасци F-8/F-78

или комерцијалниот D-80. Со компарација на Пирсоновиот коефициент на корелација (ρ), може да забележиме кои параметри имаат повисока поврзаност. Ако $\rho = 1$, тоа значи дека постои совршена линеарна зависност, односно растот на една променлива значи и раст на другата променлива. Доколку коефициентот на корелација е помеѓу 0,5 и 0,9 постои тесна поврзаност. Ако коефициентот на корелација е помеѓу 0,2 и 0,5 тогаш поврзаноста е послаба, но сè уште постои зависност помеѓу варијабилите. Се разбира негативните вредности, $\rho = -1$ значат обратно пропорционална врска.

Табела 10. Приказ на Пирсонов коефициент на корелација (ρ) добиен со корелација помеѓу вината од сортата Вранец произведени со автохтони (F-8/F-78) и комерцијален квасец (D-80)

Table 10. Display of Pearson's coefficient of correlation (ρ) received from correlation between wines Vranec produced from indigenous (F-8/F-78) and commercial (D-80) strains of yeasts

Correlations

	D80	F78	F8
D80			
Pearson Correlation	1	,999**	,996**
Sig. (2-tailed)		,000	,000
N	7	7	7
F78			
Pearson Correlation	,999**	1	,993**
Sig. (2-tailed)	,000		,000
N	7	7	7
F8			
Pearson Correlation	,996**	,993**	1
Sig. (2-tailed)	,000	,000	
N	7	7	7

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Анализата покажува дека има висока корелациона поврзаност помеѓу трите испитувани вина од сортата Вранец (од F-8/F-78/D-80). Бидејќи главната цел на истражувањето е да се детектира корелационата поврзаност помеѓу Вранецот произведен од автохтоните соеви квасци F-8/F-78 и Вранецот од комерцијалниот сој квасец D-80, укажувам дека помеѓу нив постои многу блиска корелација.

Пирсоновиот коефициент на корелација (ρ) помеѓу виното Вранец од F-8 и D-80 изнесува ($,996$) што укажува на многу висока корелациона поврзаност. Исто така, Пирсоновиот коефициент на корелација (ρ), помеѓу виното Вранец од F-78 и D-80 изнесува ($,999$) што исто така укажува на висока корелација.

Табела 11. Приказ на Пирсонов коефициент на корелација (ρ) добиен со корелација помеѓу вината од сортата Каберне Совињон произведени со автохтони (F-8/F-78) и комерцијален квасец (D-80)
Table 11. Display of Pearson's coefficient of correlation (ρ) received from correlation between wines Cabernet Sauvignon produced from indigenous (F-8/F-78) and commercial (D-80) strains of yeasts

Correlations

		D80	F78	F8
D80	Pearson Correlation	1	,997**	,999**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000
	N	7	7	7
F78	Pearson Correlation	,997**	1	,993**
	Sig. (2-tailed)	,000		,000
	N	7	7	7
F8	Pearson Correlation	,999**	,993**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	
	N	7	7	7

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Од ова истражување доаѓаме до заклучок дека повисока корелациона поврзаност кај виното Вранец има помеѓу виното произведено од автохтониот сој квасец F-78 и D-80, (,999), додека кај виното Каберне Совињон повисока корелациона поврзаност има помеѓу виното произведено од автохтониот сој квасец F-8 и D-80 (,999). Вредноста на Пирсоновиот коефициент на корелација е иста (,999).

Помала корелациона поврзаност, кај виното Вранец има помеѓу виното произведено од автохтониот сој квасец F-8 и D-80, (,996), додека кај виното од сортата Каберне Совињон помала корелациона поврзаност има помеѓу виното произведено од автохтониот сој квасец F-78 и D-80 (,997).

5.6. Дескриптивна статистика

Во втората фаза од статистичката обработка на резултатите е користен, повторно, статистичкиот пакет SPSS 19, од каде може да се измери фреквенцијата, процентуалната застапеност на податоците, мерките за централна тенденција (мода, медијана, стандардна девијација, дисперзија, аритметичка средина), како и графички приказ на податоците (хистограми).

При статистичката обработка и интерпретација на резултатите беа користени следниве мерки за централна тенденција:

- ✓ Аритметичка средина,
- ✓ Мод,
- ✓ Медијана,
- ✓ Варијанса,
- ✓ Стандардна девијација и
- ✓ Аритметичката средина.

Аритметичката средина го покажува просекот на резултатите. Таа е просечна вредност на низа податоци. При нејзиното пресметување се собира вредноста на секој одделен резултат од низата и затоа таа се смета за најдобар претставник на групата податоци. Аритметичката средина најчесто се

бележи со симболот \bar{X} , но се користат и симболите за аритметичка средина добиена на популација.

Модот е најзастапената вредност во низата податоци. Тоа е резултатот кој се јавува најголем број пати, што значи резултатот, вредноста со најголема фреквенција. Кај полигоните на фреквенција, модот претставува нивниот врв или врвови, односно тоа е највисокото столпче од хистограмот. Мод претставува категорија, а не фреквенција.

Медијаната претставува средишна или централна вредност во низа рангирани податоци. Медијаната ги одвојува случаите на половина, што значи над и под медијаната се наоѓаат по 50% случаи. Кога серијата податоци е со непарен број, централниот резултат во низата претставува медијана. Кај парен број резултати, медијаната се наоѓа кога двата средни резултати ќе се соберат и поделат со два.

Збирот на просечните отстапувања, доколку се земе во предвид предзнакот, изнесува нула. Еден од начините да се избегнат предзнаците е отстапувањата да се квадрираат. Ако се соберат квадратирани отстапувања и се поделат со N (или $N-1$) се добива една мерка на варијабилност што се нарекува варијанса. Варијансата претставува просечна сума на отстапувањата бидејќи делењето со N всушност значи пресметување на аритметичката средина на отстапувањата.

Во применетата статистика повеќе се користи една стандардна мерка за мерење на варијабилноста на резултатите која претставува квадратен корен на дисперзијата. Оваа мерка се нарекува стандардно отстапување или стандардна девијација и се обележува со малата грчка буква сигма σ . Стандардната девијација е мерка на дисперзија со најголемо теориско и практично значење. Се користи како стандард за мерење на варијабилитетот на резултати од интервалната и размерната скала.

Во овој магистерски труд дескриптивната статистика е спроведена одделно за двете сорти на вина Вранец и Каберне Совињон произведени со три различни соеви на квасци (F-8, F-78, D-80).

Како параметри за дескриптивната статистика беа земени: содржината на алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја.

После спроведената анализа ги добиваме следните вредности за: аритметичка средина, медијана, мод, варијанса, стандардна девијација и минимум и максимум за виното Вранец за следниве параметри: алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја.

На табела 12. е даден детален приказ на дескриптивната статистика, односно е прикажана вредноста за аритметичка средина, медијана, мод, варијанса, стандардна девијација и минимум и максимум за виното Вранец. Како параметри анализирани се содржината на алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја.

Табела 12. Дескриптивна статистика на виното од сортата Вранец
Table 12. Descriptive statistics for the wine from the grape variety Vranec

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance
	Statistic	Statistic	Statistic	Median	Mode	Statistic	Statistic
Alcohol	3	14,11	14,96	14,53	14,11 ^a	,42501	,181
Total polyphenols (TP)	3	1513,00	1618,60	1528,3000	1513,00 ^a	57,06654	3256,590
Total anthocyanins (TA)	3	583,20	652,70	636,2000	583,20 ^a	36,31230	1318,583
Color Intensity (IC)	3	2,11	3,13	2,3798	2,11 ^a	,52962	,280

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown (Постојат повеќе моди. Даден е приказ на најмалите вредности.)

Од табелата се забележува дека стандардно отстапување или стандардна девијација кај параметарот алкохол изнесува (,42501), додека кај вкупните полифеноли изнесува (57,06654), кај параметарот вкупни антоцијани изнесува (36,31230), а кај интензитетот на боја изнесува (,52962).

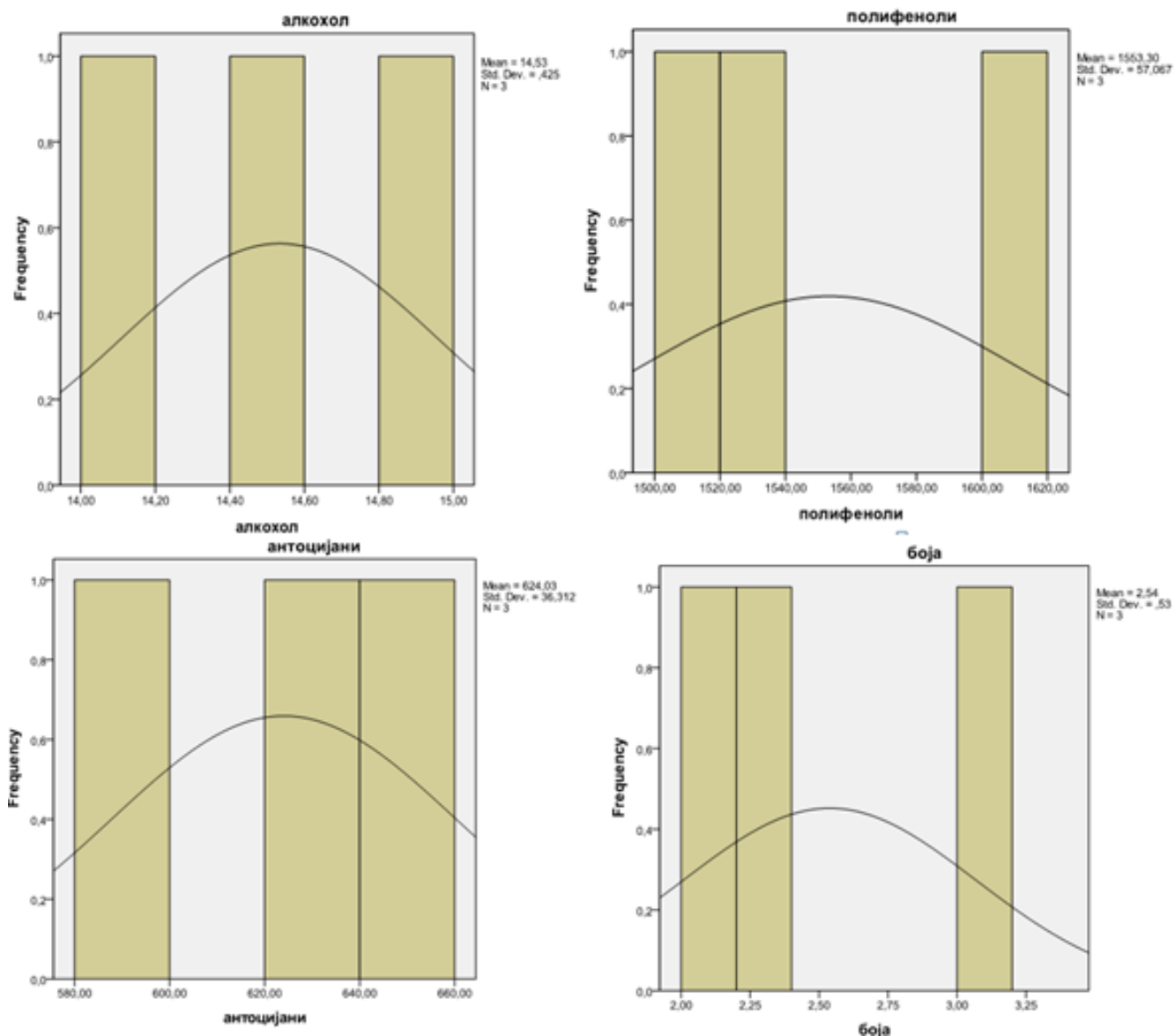


График 8. Хистограми како приказ на дескриптивна статистика на виното од сортата Вранец
 Graph 8. Histogram for descriptive statistics for the wine from the grape variety Vranec

На график 8. е даден хистограмски приказ на сите параметри, содржината на алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја кај виното од сортата на грозје Вранец.

Табела 13. Дескриптивна статистика на виното од сортата Каберне Совињон
 Table 13. Descriptive statistics for the wine from the grape variety Cabernet Sauvignon

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance
	Statistic	Statistic	Statistic	Median	Mode	Statistic	Statistic
Alcohol	3	13,97	14,68	14,5100	13,97 ^a	,37072	,137
Total polyphenols (TP)	3	1450,30	1611,60	1495,1000	1450,30 ^a	83,26362	6932,830
Total anthocyanins (TA)	3	470,40	572,10	539,4000	470,40 ^a	51,91849	2695,530
Color Intensity (IC)	3	2,10	3,11	2,2756	2,10 ^a	,53823	,290

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown (Постојат повеќе моди. Даден е приказ на најмалите вредности.)

Од табелата се забележува дека стандардно отстапување или стандардна девијација кај параметарот алкохол изнесува (,37072), додека кај вкупните полифеноли изнесува (51,91849), кај параметарот вкупни антоцијани изнесува (36,31230), а кај интензитетот на боја изнесува (,53823).

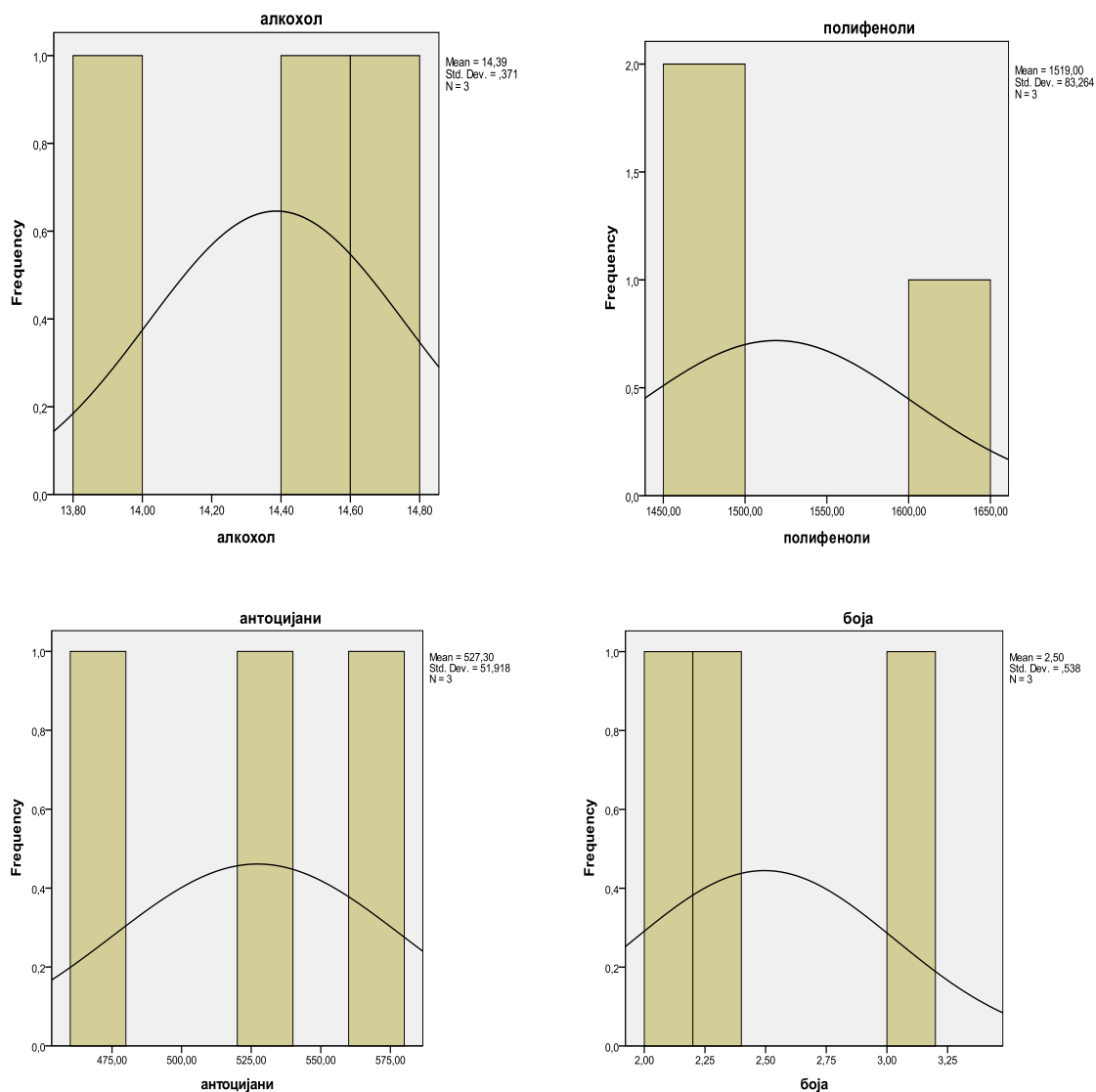


График 9. Хистограми како приказ на дескриптивна статистика на виното од сортата Каберне Совињон
 Graph 9. Histogram for descriptive statistics for the wine from the grape variety Cabernet Sauvignon

На график 9. е даден хистограмски приказ на сите параметри, содржината на алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја кај виното од сортата на грозје Каберне Совињон.

5.7.Хемиски карактеристики на виното од сортата на грозје Вранец и Каберне Совињон во текот на 2017 година

Ова истражување беше спроведено во текот на две сезони во периодот од 2016 до 2017 година. Во текот на 2016 година беше извршена бербата на грозјето и истата година беше произведено виното, додека во почетокот од 2017 година се следеше динамиката на хемиската структура и состојбата на вината. Кон крајот на месец март, 2017 година виното беше сместено во дрвени садови каде што беше следен неговиот развој.

Помеѓу трите вина од сортата на грозје Вранец и Каберне Совињон, произведени од различни соеви на квасци, можеме да утврдиме дека постои одредена разлика во хемиските карактеристики и нивниот полифенолен профил.

Поради фактот дека грозјето доаѓа од истиот насад, од истиот локалитет, деновите на мацерација се исти (16 дена) за сите три вина, доаѓаме до заклучок дека постојат мали варијации во текот на динамиката на ферментација, како и во текот на одлежувањето на вината. После сместувањето на виното во дрвени садови, во фазата на одлежување, беше извршена хемиска анализа на сите три испитувани вина од сортата Вранец, како и од сортата Каберне Совињон.

Табела 14. Хемиски карактеристики на вина од сортата Вранец и Каберне Совињон, 2017 година

Table 14. Chemical characteristic of wine Vranec and Cabernet Sauvignon at 2017 year

Вино	Квасец	Алкохол (% вол)	Шеќер (g/L)	Вкупни кис. (g/L)	Испар. кис. (g/L)	pH	Слободен SO ₂ (mg/L)	Вкупен SO ₂ (mg/L)
Вранец	F-8	15,14	1,9	6,7	0,69	3,31	20	68
Вранец	F-78	14,45	1,7	7,01	0,41	3,29	21	58
Вранец	D-80	14,68	1,5	7,19	0,5	3,22	23	62
К.Сов.	F-8	14,78	1,7	5,21	0,45	3,71	21	95
К.Сов.	F-78	14,95	1,5	6,17	0,61	3,75	25	74
К.Сов.	D-80	14,05	1,8	5,15	0,5	3,72	32	98

На табела 14. е даден приказ на хемиската анализа после сместувањето на виното во дрвени садови. Во фазата на одлежување на вината, беше извршена хемиска анализа на сите три испитувани вина од сортата Вранец, како и од сортата Каберне Совињон.

Од табела 14. се забележува дека постојат одредени разлики помеѓу хемиската анализа извршена во текот на производната година 2016 (година на производство) и следната година 2017 (година на одлежување на вината).

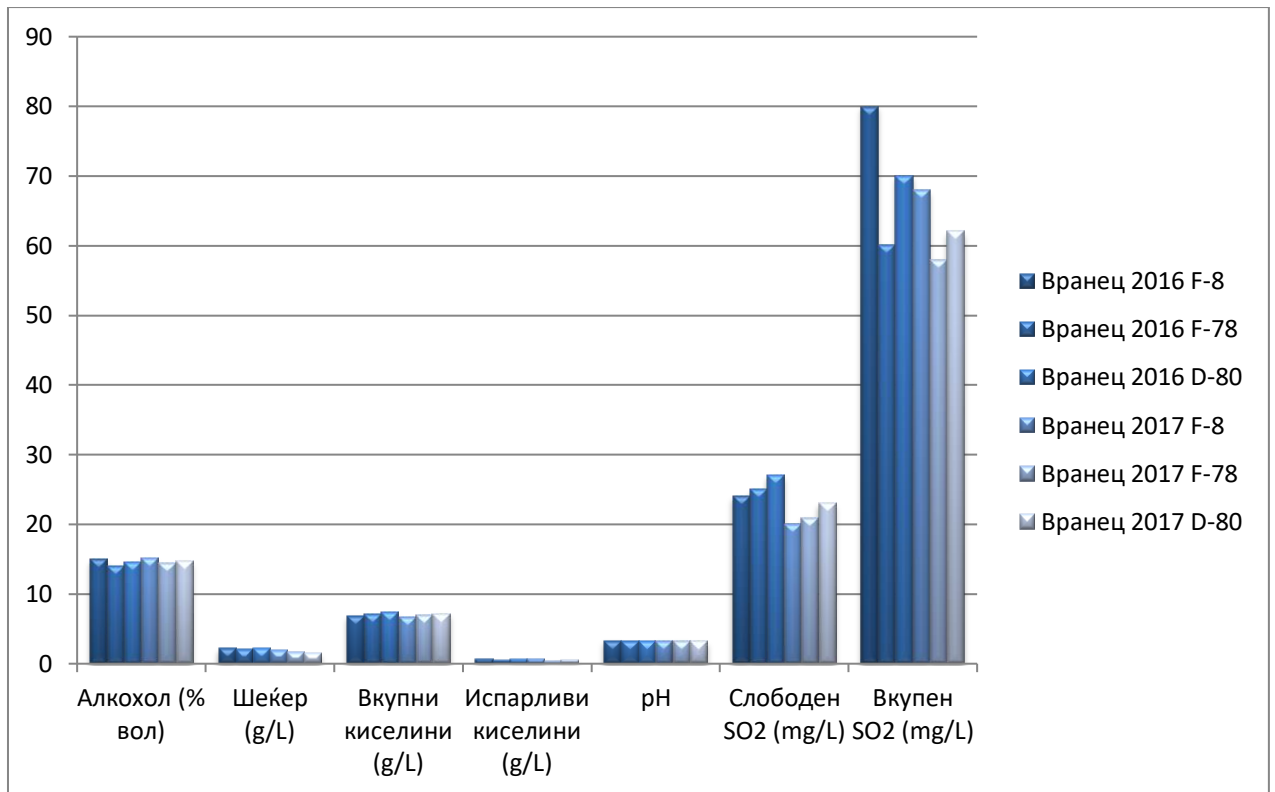


График 10. Споредбена анализа на хемиските карактеристики на виното Вранец 2016/2017 година
 Graph 10. Comparative analysis of the chemical characteristics of the wine Vranec 2016/2017

Од график 10. се забележува дека постои одредена разлика во содржината на алкохол, каде што во 2017 година е зголемена концентрацијата на сметка на тоа што е намалена содржината на шеќер. Нивото на вкупни киселини за одредена минимална разлика паѓа, додека испарливите киселини растат, но во незабележителна концентрација. Содржината на слободен и вкупен SO₂, опаѓа, додека pH вредноста расте незабележително.

Органолептички за вината од сортата Вранец, со сигурност можеме да кажеме дека се работи за вина со темно црвена интензивна рубин боја, со овошна арома на какао, чоколадо и вкус на шумско овошје, ванила и путер.

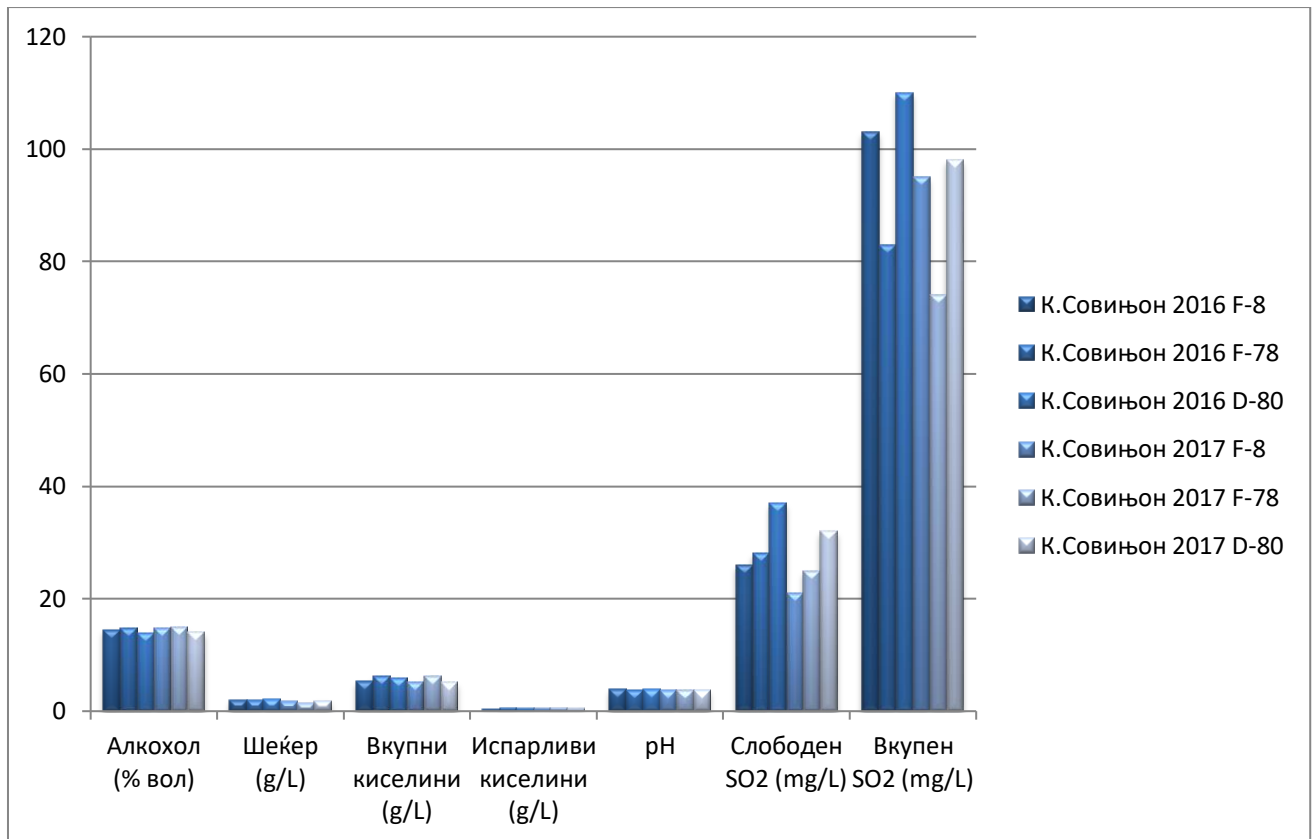


График 11. Споредбена анализа на хемиските карактеристики на виното Каберне Совињон 2016/2017 година

Graph 11. Comparative analysis of the chemical characteristics of the wine Cabernet Sauvignon 2016/2017 year

Од график 11. кај виното од сортата Каберне Совињон, исто така се забележува дека постои одредена разлика во содржината на алкохол, каде што во 2017 година е зголемена концентрацијата на сметка на тоа што е намалена содржината на шеќер. Нивото на вкупни киселини за одредена минимална разлика паѓа, додека испарливите киселини растат, но во незабележителна концентрација. Содржината на слободен и вкупен SO₂, опаѓа, додека рН вредноста расте незабележително.

Органолептички се работи за вина со пурпурно-црвена боја, дискретна овошна арома со траги на зачин и мириси на вишна, малина и на суво грозје.

6. ДИСКУСИЈА

Основната цел на ова истражување е утврдување на различните карактеристики помеѓу автохтоните и комерцијалните соеви квасци врз различните сорти на грозје и нивното влијание врз сортните карактеристики на произведеното вино.

Во оваа истражување е утврдена и корелацијата помеѓу автохтони и комерцијални соеви квасци врз хемиските карактеристики на вината произведени од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон како и дескриптивната статистика за вината произведени од овие две сорти на грозје, зависно од влијанието на автохтоните или комерцијалните соеви квасци.

Врз основа на резултатите добиени од ова истражување, успешно е докажана разликата во хемискиот профил на вината произведени од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон, со примена на автохтони и комерцијални соеви квасци во првата година на истражувањето 2016 и следната година на одлежувањето на виното, 2017.

Органолептички за вината од сортата Вранец, со сигурност можеме да кажеме дека се работи за вина со темно црвена интензивна рубин боја, со овошна арома на какао, чоколадо и вкус на шумско овошје, ванила и путер. Додека вината од сортата на грозје Каберне Совињон се со пурпурноцрвена боја, дискретна овошна арома со траги на зачин и мириси на вишна, малина и на суво грозје.

Во денешно време во производството на вино се користат претежно чисти култури селектирани вински квасци, што доведе до значителен напредок на технолошко ниво, поради голем број на предности: способност за брза и ефикасна ферментација на гроздова каша или шира со висока концентрација на шеќери, отпорност на висока концентрација на етанол и SO₂, отпорност на високи температури за време на ферментација.

Сè почестата употреба на комерцијални производи – селектирани видови квасци при производство на вино доведува до губење на автохтоните, локални за даден регион популации на квасци.

Во поглед на препораките и можните решенија за подобување на состојбата во Република Македонија, со цел зголемувањето на интересот кај научниците и производителите на вино за производство на високо квалитетни вина, укажувам на некои важни препораки по кои би можеле да почнеме да работиме, за да ја утврдиме важноста на автохтони соеви квасци.

- ✓ Појава на зголемен интерес кај научниците и производителите на вино за автохтони соеви квасци. По извршената селекција на автохтони соеви квасци со добри карактеристики, истите можат успешно да се користат во производството на вино. Со тоа би се подобрил биодиверзитетот во дадена област, би се збогатило биолошкото наследство, што е од суштинско значење за производство на вина со контролирано потекло, со типичен вкус и арома.
- ✓ Автохтоните квасци исто како и комерцијалните ја спроведуваат алкохолната ферментација интензивно, контролирано и до крај.
- ✓ Со примена на автохтони квасци во процесот на алкохолна ферментација, кај произведените вина не постои одредена значителна разлика во нивниот хемиски состав, како и во органолептичкиот профил на вината.
- ✓ Главно е примена на контролирана ферментација, поради тоа што условите на алкохолната ферментација силно влијаат врз метаболизмот на квасецот, го стимулираат или инхибираат неговиот потенцијал.
- ✓ Контрола на температурните осцилации во текот на алкохолната ферментација, контрола на количината на посеани квасци има значително влијание врз квалитетот на добиеното вино.
- ✓ Мацерацијата не се однесува само на екстракцијата на фенолите, туку и на растворените полисахариди, протеини и пептиди кои потекнуваат од грозјето и клеточните ѕидои на квасецот. Максималното ниво на екстракција на бојата се достигнува на половина пат од ферментацијата. Антоцијаните се екстрахираат многу лесно, а додека фенолите, се екстрахираат малку побавно. Ова е главната причина зошто истиснувањето на сокот доведува до производство на вина со добра почетна боја, релативно ниска острина, ниско вкупно ниво на феноли и многу често ваквите вина се обоени и имаат лесно тело, сложеност и

длабочина. Овошниот карактер обично е обратно пропорционален со нивото на феноли.

- ✓ Продолженото чување на гроздовиот сок во допир со лушпите и семките влијае врз еволуцијата на танините, при што се создава пополни тело, сложеност, длабочина при консумирањето и подобра стабилност на бојата. За разлика од антоцијаните, фенолите на танините се екстрахираат во текот на периодот на контакт со лушпата.
- ✓ Со зголемување на времето на мацерација, доаѓа до зголемување и на екстракцијата и полимеризацијата на фенолите од танини со поголема молекуларна тежина. Повисоката екстракција и полимеризација на фенолите за време на продолжената мацерација доведува до производство на вина кои се „заоблени“ и „цврсти“ при допир на непцето и значаен потенцијал за стареење на виното.

7. ЗАКЛУЧОК

Квалитетот на произведеното вино во голема мера зависи од примената на селекциониран квасец во процесот на алкохолна ферментација. Во денешно време во производството на вино се користат претежно чисти култури селекционирани вински квасци, но последниве години постои сè поголем интерес кај научниците и производителите на вино за автохтони соеви квасци. По извршената селекција на автохтони соеви квасци со добри карактеристики, истите можат успешно да се користат во производството на вино.

Врз основа на резултатите кои се добиени од истражувањето можат да се донесат следните заклучоци:

- ✚ Концентрацијата на шеќер во грозјето од сортата Вранец изнесува 247 g/L шеќер, додека грозјето од сортата Каберне Совињон содржи 236 g/L шеќер.
- ✚ Периодот за мацерација на вината од двете сорти изнесува 16 дена. Алкохолната ферментација при производство на вината од сортите на грозје Вранец и Каберне Совињон беше контролирана на температура од 23-25 °C.
- ✚ Сите испитувани квасци, без разлика дали станува збор за автохтоните F-8 / F-78 или пак се работи за комерцијалниот квасец D-80, ја спроведуваат алкохолната ферментација до крај.
- ✚ Кај гроздовата каша од сортата Вранец со примена на автохтониот квасец F-78, во текот на алкохолната ферментација се забележува директен, побрз пад на концентрацијата на шеќер, за разлика од D-80, каде што има поблаг пад на динамиката на алкохолната ферментација.
- ✚ Виното од сортата Вранец, каде што во процесот на алкохолна ферментација беше инокулиран автохтониот сој квасец F-8, има највисок % на алкохол (14,96). Виното, каде што беше инокулиран другиот сој автохтон квасец F-78, има најмал % на алкохол (14,11). Виното од сортата Каберне Совињон, каде што во процесот на алкохолна ферментација беше инокулиран автохтониот сој квасец F-78, има највисок % на алкохол (14,68). Виното, каде што беше инокулиран комерцијалниот квасец D-80, има најмал % на алкохол (13,97).

- ✚ Состојбата со остаток на шеќер во последниот ден од ферментацијата се движи во граница од 2-3 g/L. Со сигурност можеме да заклучиме дека се работи за суви вина.
- ✚ Кај виното произведено од сортата на грозје Каберне Совињон се појавуваат помали концентрации на вкупни полифеноли (TP), за разлика од виното од сортата Вранец.
- ✚ Интервалот на вредноста на вкупни полифеноли е некаде од 1450,3 mg/L до 1611,6 mg/L, каде што најниска е концентрацијата кај виното произведено со квасецот F-78, највисока кај виното произведено со квасецот D-80.
- ✚ Исто и вкупните антоцијани (TA), имаат највисока концентрација во виното произведено од комерцијалниот квасец D-80 (572,1 mg/L), додека најмала вредност кај виното произведено од автохтониот квасец F-78 (470,4 mg/L).
- ✚ Интервалот на вредноста на интензитет на боја е помеѓу (2,1013 – 3,2756), каде што највисока е вредноста кај виното произведено со комерцијалниот квасец D-80 (3,2756) и најмала вредност кај виното произведено со квасецот F-78 (2,1021).
- ✚ Се забележува дека не постојат одредени значителни варијации помеѓу сите три повторувања, во однос на содржината на вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја кај една сорта на вино, но постојат варијации од една до друга сорта на вино.
- ✚ Во ова истражување, кај виното произведено од сортата на грозје Вранец, се забележува поголема концентрација на вкупни полифеноли. Виното од сортата на грозје Вранец има поголем интензитет на боја, со што органолептички се работи за вина со интензивна темно-црвена рубин боја.
- ✚ Статистичката анализа покажува дека има висока корелациона поврзаност помеѓу трите испитувани вина од сортата Вранец (од F-8/F-78/D-80). Бидејќи главната цел на истражувањето е да се детектира корелационата поврзаност помеѓу Вранецот произведен од автохтоните соеви квасци F-8/F-78 и Вранецот од комерцијалниот сој квасец D-80, укажувам дека помеѓу нив постои многу блиска корелација.

- ✚ Пирсоновиот коефициент на корелација (ρ), помеѓу виното Вранец од F-8 и D-80 изнесува ($,996$) што укажува на многу висока корелациона поврзаност. Исто така, Пирсоновиот коефициент на корелација (ρ), помеѓу виното Вранец од F-78 и D-80 изнесува ($,999$) што исто така укажува на висока корелација. Кај виното Каберне Совињон повисока корелациона поврзаност има помеѓу виното произведено од автохтониот сој квасец F-8 и D-80 ($,999$). Вредноста на Пирсоновиот коефициент на корелација е иста ($,999$).
- ✚ Во 2017 година кај вината од сортата Вранец и Каберне Совињон е зголемена концентрацијата на алкохол на сметка на тоа што е намалена содржината на шеќер. Нивото на вкупни киселини за одредена минимална разлика паѓа, додека испарливите киселини растат, но во незабележителна концентрација. Содржината на слободен и вкупен SO_2 опаѓа, додека pH вредноста расте незабележително.
- ✚ Дескриптивната статистика е спроведена одделно за двете сорти на вина Вранец и Каберне Совињон произведени со три различни соеви на квасци (F-8, F-78, D-80). Како параметри за дескриптивната статистика беа земени: содржината на алкохол, вкупни полифеноли, вкупни антоцијани и интензитет на боја.
- ✚ Органолептички за вината од сортата Вранец, со сигурност можеме да кажеме дека се работи за вина со темно-црвена интензивна рубин боја, со овошна арома на какао, чоколадо и вкус на шумско овошје, ванила и путер. Органолептички виното Каберне Совињон е со изразена пурпурно-црвена боја, дискретна овошна арома со траги на зачин и мириси на вишна, малина и на суво грозје.

8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА:

- [1] Абрашева П., Бамбалов К., Георгиев А., (2008). Лозарство и винарство. София, изд. „Матком”, 344.
- [2] Бамбалов Г., (1981). „Микробиология на винопроизводството“, изд. „Х. Г. Данов“, Пловдив.
- [3] Бамбалов Г., Спасов Х., Цветанов О., Бамбалов К., (1996). „Нови щамове дрожди за производство на червени вина“, Лозарство и винарство, 5, 22-26.
- [4] Божиновиќ З., (2010). Ампелографија. Агринет. Скопје.318.
- [5] Илиева Ф., (2013). Изолиране и селекција на винени дрожди от района на Тиквеш и приложението им за производство на регионални червени вина. PhD thesis, Univerzitet za hranitelni tehnologii - Plovdiv.
- [6] Каров И., Илиева Ф., (2014). „Микробиологија на вино“ рецензирана скрипта. Земјоделски Факултет, Универзитет „Гоце Делчев “ – Штип.
- [7] Колева З., (1978). Значење на селектираните дрожди за провеждане на алкохолната ферментација във винопроизводството. Лозарство и винарство, 7, 35-41.
- [8] Нестерова Г., Соом Ј., (1973). Метод определения антагонизма между различными штаммами дрожжей. Прикладная биохимия и микробиология, т. IX, 3, 341-347.
- [9] Спасов Х., Кочева Е., Бамбалов В., Бамбалов К., (1998). Влияние на винените дрожди върху цвета на червени вина. Лозарство и винарство, 4, 13-15.
- [10] Спасов Х., Бамбалов В., Тодорова Ф., (2005). Влияние на дрождите и условията на ферментација върху киселините на виното. Лозарство и винарство, 5, 39-43.
- [11] Янков, (1992) „Технологија на винопроизводството“, Земиздат София, 350-360.
- [12] Чобанов Ј, Бамбалов Г., Спасов Х., Гюиу-Бенетие М., Ерве А., (2005). „Селекција на дрожди за червени вина от района на гр. Пловдив“, Научни трудове на УХТ, том LII, свитък 1, 90-96.
- [13] Alexandre H., Charpentier C., (1998). Biochemical aspects of stuck and sluggish fermentation in grape must. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 20, 20-27.

- [14] Barbosa C., Falco V., Mendes-Faia A., Mendes-Ferreira A., (2009). "Nitrogen addition influences formation of aroma compounds, volatile acidity and ethanol in nitrogen deficient media fermented by *S. cerevisiae* wine strains", *Journal de Bioscience and Bioengineering* 108, 99-10.
- [15] Beltran i Casellas G. (2005). Effect of Low temperature Fermentation and Nitrogen Content on Wine Yeast Metabolism. Dissertation submitted by Universitat Rovira i Virgili, Facultat d'Enologia, department de Bioquímica i Biotecnologia, Tarragona, Spain, pp 248, <http://www.tdx.cat/TDX-0922105-094617>
- [16] Berthels NJ., Cordero Otero RR., Bauer FF., Thevelein JM., Pretorius IS., (2004). „Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains.“ *FEMS Yeast Res* 7, 683–689
- [17] Ciani, Fatichenti, (1999). "Selective sugar consumption by apiculate yeasts", *L.A.M.* 28, 203-206.
- [18] Escot, Feuillat, Dulau & Charpentier., (2001). "Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency", *Laboratoire d'OEnologie, Institut Universitaire de la Vigne et du Vin, Franc.*
- [19] Fugelsang, C. K., Edwards G. C., (2007). „Wine microbiology. Practical applications and procedures", second editon, Springer Science & Business Media, LLC.
- [20] Ilieva F., Ivanova Petropulos V., Dimovska V., Mitrev S., Karov I., Spasov H., (2014). Influence of authochtonous yeasts on the quality of wines from Vranec and Cabernet sauvignon varieties. *Proceedings of 24nd International scientific–expert conference of agriculture and food industry, Sarajevo-Izmir 2013.* p.p. 220-225.
- [21] Ingledew W., Kunkel R., (1985). Factors Influencing Sluggish Fermentations of Grape Juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 36, 1, 65-76.
- [22] Jiranek V., Langridge P., Henschke P., (1995). Regulation of Hydrogen Sulfide Liberation in Wine-Producing *Saccharomyces cerevisiae* Strains by Assimilable Nitrogen. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, 2, 461-467. (2).
- [23] Julien A., Roustan JL., Dulau L., Sablayrolles JM., (2000). „Characterisation of enological yeast strains: Evaluation of their nutrient requirements in nitrogen and oxygen", *Am. J. Enol. Vitic.* 51(3), 302.
- [24] Lafon-Lafourcade S., (1984). Souches de levures. *Bulletin de l'O.I.V.*, vol. 57-637, Mars, 185-203.

- [25] Lubbers S., Verret C., Voilley A.,(2001). The Effect of Glycerol on the Perceived Aroma of a Model Wine and a White Wine. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, vol.34, 262-265, <http://www.ideallibrary.com>.
- [26] Monagas M., Gomez-Cordoves C., Bartolome B., (2007). "Evaluation of different *S. cerevisiae* strains for red winemaking. Influence on the anthocyanin, pyroanthocyanin and non-anthocyanin phenolic content and colour characteristics of wines", *Food chemistry* 104, 814-823.
- [27] Monteiro F., Bisson L., (1992). Nitrogen Supplementation of Grape Juice. I. Effect of Amino Acid Utilization During Fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 43, 1, 1-10.
- [28] Morata A., et al., (2003) "Adsorption of Anthocyanins by Yeast Cell Walls during the fermentation of red wine", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 4084-4088.
- [29] Nikolau E., et al., (2006). "Selection of indigenous *S. cerevisiae* strains according to their oenological characteristics and vinification results", *Food microbiology* 23, 205-211.
- [30] Perez-Coello et al., (1999). "Characteristics of wine fermented with different *S. cerevisiae* strains isolated from La Mancha region", *Food microbiology* 14, 247-254.
- [31] Radler F., Schütz H., (1982). Glycerol Production of Various Strains of *Saccharomyces*. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 33, 1, 36-40.
- [32] Ribéreau-Gayon, (1982). "The anthocyanins of grapes and wines", New York: Academic press.
- [33] Ribereau-Gayon P., Dubourdien D., Doneche B., Lonvaud A., (1999). *Handbook of Enology. Volume 1. The Microbiology of Wine and Vinifications*. John Wiley&Sons LTD, pp. 497.
- [34] Romano, Fiore, Paraggio, Caruso, Capece, (2003). "Function of yeast species and strains in wine flavor", *I.J.F.M.* 86, 169-180.
- [35] Salmon JM., Vuchot P., Doco T., Moutounet M., (2003). „Maintenance and protection of yeast morphology by contact with wine polyphenols during simulation of wine aging on lees.“, *J Food Sci* 68, 1782–1787.
- [36] Valujko G., (1979). Phenolische Inhaltsstoffe der Trauben und deren Bedeutung bei der Rotweinerzeugung. *Mitteilungen Klosterneuburg*.

[37] Viana F., Genovés G., Menzanares V., (2007). "Rational selection of non-Saccharomyces wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits", J.F.M. 25, 778-785.

[38] <http://www.brsquered.org/wine>