**UTICAJ RAZLIČITIH POSTUPAKA OBRADE SUPSTRATA NA PROIZVODNJU VINA OD RIŽE**

Aleksandar Savić\*1, Nataša Božić1, Dijana Maletić1, Vera Simic1, Ljubinka Momić1

1Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet, Banja Luka, e-mail: aleksandar.savic@unibl.rs, natasabozic20@icloud.com, maletic.dijana93@hotmail.com, simicvera@hotmail.com, ljubinka116@gmail.com

**Sažetak**

Proizvodnja šećera i šećernih sirupa iz hidolizata riže je povećana u zadnje vrijeme. Ovaj sirup se koristi u proizvodnji hrane, a može se koristiti i kao izvor fermentabilnih šećera za proizvodnju razlličitih alkoholnih pića (rakija od riže, vino od riže itd.). Da bi se mogla proizvesti ova pića, potrebno je odabrati kvalitetnu sirovinu, provesti hidrolizu i fermentaciju na adekvatan način. Cilj ovog rada je dobijanje rižinog vina od tri vrste riže: slatke (“glutinous”) riže i riža okruglog i dugog zrna, koje su podvrgnute hidrolizi i ošećerenju pomoću komercijalnih enzimskih preparata Termamyl, Dextrozyme i Fungamyl ili uz dodatak komercijalne starter kulture za proizvodnju rižinog vina pod nazivom „yeast balls“. Primijenjeni postupci hidrolize su uticali na brzinu hidrolize i sadržaj suve materije u dobijenim hidrolizatima. Različiti tretmani nastalih hidrolizata su uticali na brzinu alkoholne fermentacije vina od riže, na količinu nastalog alkohola kao i na neke druge parametre kvaliteta dobijenog vina.

Ključne riječi: riža, hidroliza, rižino vino

**Uvod**

Riža (pirinač) (*Oryza sativa*) je jednogodišnja biljka iz porodice trava, porijeklom iz jugoistočne Azije. Osnovni sastojci zrna riže su: ugljeni hidrati (70-85%), voda (13%), bjelančevine (5-10%), masti (1-2,5%). Uz to je bogata i vitaminima E, B1, B2, B6 i mineralnim materijama. Riža sadrži najviše skroba (oko 75%), koji je najkvalitetniji od svih skrobova, ali ga je najteže izolovati, jer su zrna jako sitna i slijepljena [1]. Postoji nekoliko hiljada sorti riže koje se međusobno razlikuju po boji, aromi i veličini zrna. Glavna razlika između pojedinih vrsta riže je u veličini zrna, to jest zrno može biti dugo, srednje i kratko [2].

Postoje četiri osnovna tipa riže na tržištu: “Indica”, “Japonica”, “aromatic” i “glutinous”. “Indica” riža je dominantna vrsta na koju otpada gotovo 80 odsto svjetske trgovine riže. Riže dugog i srednje dugog zrna spadaju u ovu grupu. “Japonica” riža, na koju otpada više od 10 odsto svjetske trgovine riže, ima više zaokruženo zrno od “Indica” vrste. Aromatične (“aromatic”) riže čine skoro 10 odsto globalne trgovine riže i još se nazivaju mirisnim rižama, dok je “glutinous” riža ljepljiva (eng. sticky) vrsta riže i još se naziva slatka (eng.sweet) riža [3].

“Glutinous” riža ([*Oryza sativa*](https://en.wikipedia.org/wiki/Oryza_sativa) var. *glutinosa*) je vrsta riže koja uglavnom raste u jugoistočnoj i istočnoj Aziji, ima vrlo nizak sadržaj amiloze (<5%), ili je uopštene nema, ali sadrži visoki sadržaj amilopektina i veoma se mnogo slijepljuje prilikom kuvanja [4]. Zove se “glutinous”, jer nakon kuvanja liči na ljepljivu zbijenu masu, ali ne sadrži gluten. Uopšteno gledajući amilozni sadržaj kod riža se kreće od 0-2% kod “glutinous” vrste, 20-25% kod obične riže i preko 30% kod riža sa vrlo visokim sadržajem amiloze.

Proizvodnja rižinog vina može da se obavlja na tradicionalni način (u zemljama jugoistočne Azije), gdje se ošećerenje skroba i provođenje alkoholne fermentacije obavlja uz korištenje starter kultura (KOJI smjesa, Bubod, Nuruk itd.) ili da se ošećerenje skroba obavi pomoću komercijalnih enzimskih preparata, a naknadna alkoholna fermentacija uz dodatak kvasaca (komercijalni način).

Za proizvodnju alkoholnih pića od riže najčešće se koriste oljuštena zrna riže, uključujući cijela ili lomljena zrna, “glutinous” riža i ljubičasta “glutinous” riža. Riža, sastavljena od molekula amiloze i amilopektina međusobno povezanih vodoničnim vezama [5,6] se prvo natopi za hidrataciju i omekšavanje granula skroba prije želatinizacije ili se pari kuvanjem što čini skrob dostupnijim enzimskoj hidrolizi [7].

Dvije najbitnije faze u proizvodnji vina od riže su saharifikacija skroba i alkoholna fermentacija [8]. Starteri za proizvodnju rižinog vina obično uključuju micelijume gljiva, kvasce i bakterije, ali su micelijumi gljiva i kvasci najvažniji, jer su od ključnog značaja za razgradnju skroba i alkoholnu fermentaciju [9]. Plijesni vrše saharifikaciju rižinog skroba i tako nastali šećer se fermentiše u alkohol od strane kvasaca i kvalitet gotovih proizvoda uglavnom zavisi od aktivnosti ovih mikroorganizama [10].

Glavne plijesni u tradicionalnim starter kulturama za proizvodnju rižinog vina su *Amylomyces rouxii*, *Rhizopus* spp. i *Mucor* spp., a najčešće prisutni kvasci su *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces sake, Hansenula* spp., *Endomycopsis filbuligera* i *Candida* spp. Plijesni proizvode a-amilaze i amiloglukozidaze koji hidrolizuju skrob u dekstrine i maltozu ali uglavnom u glukozu [11-13]. Komercijalni preparat “Yeast balls” – Xiaoqu je starter kultura koja se u istočnoj Aziji koristi za dobijanje rižinog vina. To su uglavnom male kocke ili kuglice (mase 10-100 g) dobijene od rižinog tijesta inkubiranog kratko vrijeme, obično samo nekoliko dana. Na zapadu se ovaj preparat zove Chinese ili Shanghai “yeast balls” [14].

Enzimi, poznati pod zajedničkim imenom amilaze, koji spadaju u grupu hidrolaza katalizuju hidrolitičku razgradnju skroba i veoma su široko raspostranjeni u prirodi. Amilaze se koriste u mnogim industrijskim granama za pretvaranje skroba u različite prehrambene proizvode, a takođe,i u mnogobrojne tehničke produkte, kao što su npr. modifikovani skrobovi [1]. Komercijalni enzimi koji se upotrebljavaju za industrijsku hidrolizu skroba najčešće potiču iz bakterijskih sojeva *Bacillus amyloliquefaciens* i *Bacillus licheniformis*. Među njima najstabilnija je amilaza iz bakterijskog soja *Bacillus licheniformis* pod nazivom Termamyl. Termamyl može izdržati temperature i do 110°С i naziva se još i likveficirana amilaza ili bakterijska termička α-amilaza. Najviše se upotrebljava jer ima veliku toleranciju prema visokim temperaturama.

Glukoamilaze se široko zastupljene u mikroorganizmima, biljkama, gljivama, i to su i najveći izvori ovih enzima [15]. Ova amilaza pod nazivom Dextrozyme ima optimalni pH interval između 4.0-5.0 i temperaturni interval između 50-60°C. Iako ovaj enzim ima sposobnost da raskida i α-1,6 glukozidne veze u razgranatim molekulima, ona ipak nije u stanju da izvrši potpunu hidrolizu skroba. Međutim, ako je pored glukoamilaze prisutna i α-amilaza, tada će skrob biti u potpunosti razgrađen. Fungalna α-amilaza (preparat Fungamyl) se dobija iz *Aspergillus niger* i razlikuje se od bakterijskih enzima u tome što je ona ralativno visoko senzitivna i većinom daje maltozu i ostale oligomere [16]. Ovaj enzim se koristi prilikom proizvodnje maltoznih sirupa i cijepa samo 1,4-α veze i daje kao glavni proizvod maltozu, pri čemu je pH interval između 5-6, a temperatura iznosi 50-60°C [1].

Izbor sirovine ima važnu ulogu u proizvodnji vina dobrog kvaliteta. Upotreba različitih starter kultura sa različitim mikrobnim sadržajem i vrsta riže utiču na ukus i aromu proizvedenog vina. Tako npr.razni sojevi *Saccharomices cereviseae* daju vina sa različitim organoleptičkim svojstvima [17]. Sa druge strane različite vrste riže utiču različito na količinu i kvalitet vina. Tako je npr. “glutinous” riža bogat izvor skroba, proteina i raznih mikroelemenata, koji mogućavaju mikroorganizmima da tokom procesa fermentacije proizvedu više vina [18]. Takođe na ukus i kvalitet proizvedenog vina može uticati tehnologija proizvodnje u zavisnosti od raspoloživosti sirovina i starter kultura. Vina od riže mogu biti jednostavna (Thai rižino vino) ili veoma kompleksna (japanski sake) [10].

Cilj ovog rada je dobijanje rižinog vina od tri vrste riže: slatke (“glutinous”) riže i riža okruglog i dugog zrna, koje su podvrgnute hidrolizi i ošećerenju pomoću komercijalnih enzimskih preparata Termamyl, Dextrozyme i Fungamyl ili uz dodatak komercijalne starter kulture za proizvodnju rižinog vina pod nazivom „yeast balls“.

**Materijal i metode rada**

U cilju praćenja procesa proizvodnje rižinog vina postavljeno je 5 eksperimenta sa oznakama 1-5. Za eksperimente 1-2 korištena je riža okruglog zrna (proizvođač „Fructa Trade – Tomico“, Derventa); za eksperimente 3-4 korištena je riža dugog zrna (proizvođač „Fructa Trade – Tomico“, Derventa); a za eksperiment 5 korištena je “glutinous” riža (proizvođač CJ Foods, Fullerton, CA, USA).

Proces proizvodnje vina od riže, obavljen je u nekoliko faza:

* dobijanje rižinog brašna (za eksperimente 1-4);
* hidroliza skroba, filtracija i fermentacija dobijenih hidrolizata
* analiza vina od riže.
* Dobijanje rižinog brašna

Nakon mljevenja riža dugog i okruglog zrna dobijeno je rižino brašno Sadržaj proteina u brašnu od riže okruglog zrna iznosio je 7,04%, a sadržaj skroba 76,14%; kod riže dugog zrna sadržaj proteina 7,04, a skroba 78,66%. Kod “glutionous” riže, koja nije podrvrgnuta postupku mljevenja, već je primijenjen tradicionalni postupak pripreme supstrata, sadržaj proteina u cijelom zrnu je iznosio 6.77g, a sadržaj skroba 82,2%. Mjerenje sadržaja proteina vršeno je metodom po Kjeldahl-u [19], a sadržaj skroba metodom po Ewers-u [20].

* Hidroliza skroba, filtracija i fermentacija dobijenih hidrolizata

U cilju dobijanja rižinih hidrolizata u eksperimentima 1-4, korišteni su slijedeći komercijalni enzimski preparati: termostabilna bakterijska α-amilaza Termamyl 120L, glukoamilaza Dextrozyme GA i fungalna α-amilaza Fungamyl. Svi navedeni preparati su proizvodi kompanije Novozymes, Denmark i korišteni su u količinama preporučenim od strane proizvođača. U eksperimentu 5 korištena je komercijalna starter kultura za proizvodnju rižinog vina pod nazivom „yeast balls“ (proizvođač Tai Loong Hong Marine Products Ltd., China).

## Eksperiment 1

Rižina suspenzija je pripremljena tako što su rižino brašno i destilovana voda pomiješani u odnosu 1:4. U suspenziju je dodano 70 ppm CaCl2, korigovana joj je pH vrijednosti do pH=6 sa 1M HCl i dodan je Termamyl 120L. Nakon dodavanja enzimskog preparata, vršeno je kuvanje suspenzije na temperaturi od 90 do 95 °C oko 1 sat. Poslije završenog kuvanja, skrobna suspenzija je ohlađena do temperature 60-65 °C, korigovana je pH vrijednosti na 4,3-4,8, dodan je Dextrozyme GA i vršeno je kuvanje na ovoj temperaturi do ošećerenja skroba. Ovaj process je ekomičan i naziva se enzimska dvostepena hladna hidroliza [21]. Ošećerenje je trajalo ukupno 1 sat i 15 minuta do postizanja sadržaja suve materije (izmjerene refraktometrom) 22,7%. Ukupna dužina trajanja procesa hidrolize bila je 2 sata i 15 minuta.

**Eksperiment 2**

Rižina suspenzija je pripremljena tako što su rižino brašno i destilovana voda pomiješani u odnosu 1:4. Suspenzija je nakon korekcije pH vrijednosti na 4-4,5 sa 1M HCl kuvana 30 minuta na temperaturi 60 °C. Nakon toga dodano je 70 ppm CaCl2 i Termamyl 120L i Fungamyl (u odnosu 1:1), nakon čega je suspenzija 1 sat kuvana na temperaturi od 90 do 95 °C. Nakon toga izvršeno je hlađenje suspenzije na temperaturu od 60 do 65 °C, dodan je Dextrozyme GA i vršeno je kuvanje na ovoj temperaturi do ošećerenja skroba. Proces ošećerenja je trajao 3 sata i 50 minuta i izmjerena je suva materija (refraktometrom) koja je iznosila 17,8%. Ukupna dužina trajanja ovog eksperimenta bila je 5 sati i 20 minuta.

**Eksperiment 3**

Rižina suspenzija je pripremljena tako što su rižino brašno i destilovana voda pomiješani u odnosu 1:2. U smjesu je nakon dodatka 70 ppm CaCl2 dodan Termamyl 120L. Smjesa je zagrijavana 30 min. na 60 °C, a nakon toga je zagrijavana još 30 min. na 95 °C. Nakon hlađenja suspenzije na temperaturu 60-65° C dodan je Dextrozyme GA i vršeno je kuvanje na ovoj temperaturi do ošećerenja skroba. Ošećerenje je izvršeno za 3h. Suva materija izmjerena nakon ošećerenja (mjerena refraktometrom) bila je 21,48%.

**Eksperiment 4**

Rižina suspenzija je pripremljena tako što su rižino brašno i destilovana voda pomiješani u odnosu 1:2. U smjesu je nakon dodatka 70 ppm CaCl2 dodan Termamyl 120L. Nakon toga je suspenzija kuvana u autoklavu 50 minuta (15 minuta na 120°C). Nakon kuvanja u autoklavu i hlađenja suspenzije na temperaturu 60-65° dodana je smjesa preparata Dextrozyme GA i Termamyl 120L (u odnosu 3:1) i vršeno je kuvanje na ovoj temperaturi do ošećerenja skroba. Ošećerenje je završeno nakon 2h i 45 min. Suva materija izmjerena nakon ošećerenja (mjerena refraktometrom) bila je 22,64%.

Metodom cijeđenja ili filtracije kod eksperimenata 1-4 izvršeno je odvajanje čvrstog dijela (tropa) od tečnog dijela (hidrolizata). Pripremljeni hidrolizati su sipani u boce za fermentaciju sa vrenjačama, u količini od 170-200 ml po boci, i za svaki eksperiment pripremljeni su uzorci (hidrolizati) sa i bez dodatka hraniva za kvasac i mliječne kiseline. U uzorke sa oznakom A dodavano je po 0,02 g hraniva za kvasac „VitaFerm® Ultra F3“ (proizvođač Erbslöh Geisenheim AG, Geisenheim, Germany) i 0,4-0,5 ml mliječne kiseline (80%-tne), dok u uzorke sa oznakom B nije ništa dodavano. U svaku bocu je potom dodano po 10 ml, prethodno rehidriranog i aktiviranog, pekarskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (proizvođač Fermin, Senta) uz testiranje u dva ponavljanja. Boce sa vrenjačama su stavljene u termostat na temperaturu od 25 °C. Fermentacija je praćena 18 dana, pri čemu je mjerena promjena mase boca sa vrenjačama.

Nakon završene fermentacije sadržaj boca, koje predstavljaju isti uzorak, je spojen, analiziran i rezultat predstavljen kao srednja vrijednost.

**Eksperiment 5**

1kg „glutinous“ riže je natopljen vodom da nabubri (1h) i nakon toga ova masa je stavljena u autoklav 50 minuta (15 minuta na 120°C). Nakon toga je pripremljena suspenzija hidrolizata i vode u omjeru 1:1 i dodane su, prethodno usitnjene, 4 kuglice starter kulture „yeast balls“. Nakon 4 dana odvojen je tečni dio od čvrstog dijela (tropa) i dobijena tečnost je podijeljena na dva dijela. U prvi dio (5A) je dodano 0,375g hraniva za kvasac „VitaFerm® Ultra F3“ (proizvođač Erbslöh Geisenheim AG, Geisenheim, Germany), a u drugi dio (5B) nije dodano ništa.

Ovako pripremljeni hidrolizati su sipani u boce za fermentaciju sa vrenjačama, u količini od 170-200 ml po boci, uz testiranje u dva ponavljanja. Fermentacija je praćena 26 dana, pri čemu je mjerena promjena mase boca sa vrenjačama Nakon završene fermentacije sadržaj boca, koje predstavljaju isti uzorak, je spojen, analiziran i rezultat predstavljen kao srednja vrijednost.

## Hemijska analiza rižinog vina

Za analizu rižinog vina korištene su slijedeće metode [22]:

* određivanje sadržaja suve materije;
* određivanje kiselosti;
* određivanje pH vrijednosti;
* određivanje sadržaja isparljivih kiselina;
* određivanje sadržaja etil-alkohola.

**Rezultati i diskusija**

U Tabela 1-3 prikazani su rezultati promjene mase boca sa vrenjačama Δmsr.(g) za eksperimente 1-5.

Tabela 1. Promjena mase boca sa vrenjačama Δmsr. (g) za eksperimente 1-2

Table 1. The change of bottles mass with fermentation locks Δmmv. (g) for experiments 1-2

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Eksperiment****Experiment****/dan fermentacije****fermentation time** | **1.** | **3.** | **5.** | **7.** | **8.** | **13.** | **14.** | **18.** | **Δ m (g)sr.****Δ m (g)mv.** |
| 1 A | 3.54 | 10.35 | 15.77 | 19.6 | 20.96 | 25.51 | 26.04 | 27.85 | **27.85** |
|  1 B  | 5.85 | 15.57 | 20.67 | 22.74 | 23.4 | 27.59 | 28.13 | 29.99 | **29.99** |
| 2 A | 6.07 | 14.53 | 16.45 | 19.82 | 20.3 | 23.58 | 23.85 | 24.99 | **24.99** |
| 2 B | 6.36 | 14.45 | 16.13 | 17.42 | 18.05 | 21.74 | 22.18 | 24.14 | **24.14** |

Tabela 2. Promjena mase boca sa vrenjačama Δmsr. (g) za eksperimente 3-4

Table 2. The change of bottles mass with fermentation locks Δmmv. (g) for experiments 3-4

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Eksperiment****Experiment****/dan fermentacije****fermentation time** | **1** | **2.** | **3.** | **7.** | **9.** | **13.** | **14.** | **18.** | **Δ m (g)sr.****Δ m(g)mv.** |
|  3 A | 4.20 | 12.22 | 18.64 | 26.47 | 27.7 | 30.05 | 30.71 | 32.82 | **32.82** |
|  3 B  | 5.40 | 15.17 | 21.77 | 27.50 | 28.72 | 31.34 | 31.98 | 34.71 | **34.71** |
|  4 A | 5.21 | 13.37 | 19.09 | 26.39 | 27.98 | 31.05 | 32.47 | 34.81 | **34.81** |
| 4 B | 6.08 | 16.27 | 21.75 | 27.47 | 28.98 | 31.77 | 32.61 | 35.57 | **35,57** |

Tabela 3 Promjena mase boca sa vrenjačama Δmsr. (g) za eksperiment 5

Table 3. The change of bottles mass with fermentation locks Δmmv. (g) for experiment 5

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Eksperiment****Experiment****/dan fermentacije****fermentation time** | **3.** | **5.** | **7.** | **10.** | **14.** | **17.** | **22.** | **26.** | **Δ m (g)sr.** **Δ m(g)mv.** |
| 5 A | 3.71 | 5.96 | 8.42 | 10.46 | 13.59 | 16.06 | 18.71 | 20.14 | **20.14** |
| 5 B | 3.49 | 5.85 | 8.31 | 10.42 | 13.58 | 16.09 | 19.31 | 20.99 | **20.99** |

Na osnovu rezultata iz tabele 1 vidljivo je da se naintenzivnija fermentacija odvijala do 7. dana, a nakon tog dana promjena mase boca sa uzorcima i vrenjačama je bila znatno manja. Takođe, može se primijetiti da su mnogo veće promjene masa ostvarene kod uzoraka iz eksperimenta 1 (27,8 i 29,9 g) nego kod uzoraka iz eksperimenta 2 (24,9 i 24,14 g). Takođe se može primijetiti da korekcija pojedinih parametara uzoraka nije uticala na tok fermentacije.

Na osnovu rezultata iz tabele 2 vidljivo je da se naintenzivnija fermentacija odvijala, kao i kod eksperimenata 1-2, do 7. dana, a nakon tog dana promjena mase boca sa uzorcima i vrenjačama je bila znatno manja. Takođe, može se primijetiti da su veće promjene masa ostvarene kod uzoraka iz eksperimenta 4 (34,81g i 35,57 g) nego kod uzoraka iz eksperimenta 3 (32,82 i 34,71 g). I u ovom slučaju se može primijetiti da korekcija pojedinih parametara nije značajnije uticala na tok fermentacije. U tabeli 3 je prikazana promjena mase boca sa vrenjačama za eksperiment 5. Poredeći vrijednosti dobijene u eksperimentima 5A i 5B (20,14g i 20,99g), vidljivo je da ne postoji bitna razlika u brzini fermentacije i da korekcija pojedinih parametara nije uticala na brzinu fermentacije. Ovo je u suprotnosti sa rezultatima do kojih su došli drugi istraživači, koji su ustanovili da postoji pozitivan uticaj dodatka hraniva na tok i brzinu fermentacije [23-25].

Poredeći dobijene vrijednosti promjene masa između eksperimenata 1-4 (enzimski postupak) i eksperimenta 5 (tradicionalni postupak), može se primijetiti da su najveće promjene ostvarene u eksperimentima 3-4, a najmanje promjene kod eksperimenta 5. To nam ukazuje da način na koji je obavljena hidroliza i odabir starter kulture znatno utiču na brzinu fermentacije.

Tabela 4. Rezultati hemijske analize rižinog vina

Table 4. The results of chemical analysis of rice wine

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Eksperiment****Experiment/****parameter****parameter** | **pH vrijednost****pH value** | **Sadržaj suve materije****Dry matter content****(%)** | **Ukupne kiseline****Total acidity (g/l)** | **Isparljive kiseline****Volatile acidity****(g/l)** | **Sadržaj alkohola****Ethanol content****%vol. (v/v)** |
| 1A | 3.45 | 6.7 | 3.6 | 0.48 | 14.38 |
| 1B | 3.79 | 6.2 | 2.6 | 0.6 | 13.84 |
| 2A | 3.66 | 4.7 | 2.4 | 0.3 | 10.2 |
| 2B | 3.69 | 4.7 | 2.5 | 0.48 | 10.27 |
| 3A | 3.53 | 6.4 | 4.26 | 1.02 | 12.77 |
| 3B | 3.86 | 6.4 | 3.03 | 0.9 | 13.48 |
| 4A | 3.56 | 6.8 | 4.23 | 1.38 | 13.75 |
| 4B | 3.90 | 6.6 | 3.06 | 1.38 | 12.16 |
| 5A | 3.59 | 9.9 | 0.09 | 0.54 | 9.87 |
| 5B | 3.96 | 16.8 | 0.18 | 0.54 | 3.16 |

Posmatrajući rezultate iz Tabele 4. može se zaključiti da izmjerene pH vrijednosti variraju i kreću se od 3,45 kod uzorka 1A do 3,96 kod uzorka 5B. Takođe se može primijetiti da su pH vrijednosti znatno niže kod korigovanih uzoraka, što je vjerovano posljedica proizvodnje kiselina od strane kvasaca u toku fermentacije [26], kao i slabog puferskog kapaciteta suspenzije riže. Praćenje pH vrijednosti je važno zato što sirćetna i sukcininska kiselina, proizvedene u toku fermentacije, dovode do povećanja sadržaja nedisociranih masnih kiselina, koje mogu uzrokovati usporavanje ili čak zaustavljanje fermentacije [26].

Sadržaj rezidualne suve materije je najveći kod uzorka 5B (16.8%), a najniži kod uzoraka 2A i 2B (4,7%), što kod uzoraka iz eksperimenata 1-4 ukazuje na to da je proces fermentacije proveden do kraja, ili da je zaostao još mali sadržaj suve materije koji može fermentisati. Kod uzoraka 5A i 5B sadržaj rezidualne suve materije je prilično visok (9.9 i 16.8%) i ukazuje da je proces fermentacije trebalo nastaviti do sadržaja suve materije oko 5%. Ovu rezidualnu suvu materiju čini veliki broj različitih materija: disaharidi kao što su saharoza, maltoza, izomaltoza, trisaharidi, tetrasaharidi [27], glicerol itd.

Sadržaj ukupnih kiselina najveći je kod uzorka 3A (4,26 g/l), a najniži kod uzorka 5A (0,09 g/l). Kod korigovanih uzoraka je sadržaj ukupnih kiselina veći nego kod nekorigovanih uzoraka (osim za uzorak 2A). Ovako nizak sadržaj kiselina nije dovoljan da bi vino bilo mikrobiološki stabilno, jer se smatra da bi taj sadržaj kod vina trebao biti iznad 4,5 g/l [28].

Sadržaj isparljivih kiselina je najveći kod uzoraka iz eksperimenata 3-4 (0,90-1.38 g/l), a kod uzorka 2A je najmanji (0,30 g/l). Sirćetna kiselina je dominantna isparljiva komponenta u vinima i prag osjetljivosti za sirćetnu kiselinu je od 0,7-1,1 g/L [29], pa se može zaključiti da izmjerene vrijednosti kod uzoraka iz eksperimenata 1-2 i 5 ne utiču negativno na njihova senzorska svojstva. U pretjeranim količinama, isparljive kiseline predstavljaju kvarenje davajući vinu neugodni okus i aromu sirćeta i obično se u vinima javlja u rasponu koncentracija 0,2-0,6 g/L, ali u određenim stanjima može biti i veća [30].

Rezultati za sadržaj alkohola pokazuju da su uzorci iz eksperimenata 1,3-4 imali znatno viši sadržaj alkohola nego uzorci iz eksperimenta 2. Ovo ne čudi, jer je početni sadržaj suve materije kod uzoraka iz ovih eksperimenta (veći od 21%) bio znatno viši nego sadržaj suve materije kod uzorka iz eksperimenta 2 (17,5%). Uzorci 5A i 5B su imali niže sadržaje alkohola od ostalih uzoraka, što ne čudi s obzirom na količinu preostale suve materije u njima. Konačni sadržaj alkohola zavisi od efikasnosti vrenja kvascem, a u studiji koju je provela Heikefelt [31] uočeno je da su cideri od soka od jabuka sorti Jonatan i Spartan imali nizak sadržaj alkohola, u poređenju sa onim koji bi trebao biti ostvaren na osnovu njihovog sadržaja šećera (procjenjenog u obliku ukupne suve materije). Osim šećera, ćelije kvasca zahtijevaju i druge hranljive tvari, kao što su azot, minerale i vitamine. Ako ćelijama kvasca nedostaju hranljive materije to im može smanjiti vitalnost, a proces fermentacije može se usporiti ili prekinuti.

**Zaključak**

* Izbor odgovarajućih enzimskih preparata i uslova za provođenje hidrolize skroba imaju veliki uticaj na dužinu trajanja hidrolize i sastav hidrolizata.
* Poredeći dobijene vrijednosti promjene masa i brzine fermentacije između eksperimenata 1-4 (enzimski postupak) i eksperimenta 5 (tradicionalni postupak), može se primijetiti da su znatno veće promjene ostvarene u eksperimentima 1-4. To nam ukazuje da način na koji je obavljena hidroliza i odabir starter kulture znatno utiču na brzinu fermentacije.
* Korekcija pojedinih parametara uzoraka nije bitnije uticala na brzinu fermentacije, ali je uglavnom imala pozitivan uticaj na kvalitet dobijenog rižinog vina.

**Literatura**

1. Boškov, Ž.: Osnovi tehnologije skroba, Tehnološki fakultet, Novi Sad (1979).
2. FAO AGRICULTURAL SERVICES BULLETIN No. 138,Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome 1999
3. Childs, N., A. Burdett: The U.S. Rice Export Market, Rice Situation and Outlook, Economic research Service/USDA (2000).
4. Chung, H.J., Q. Liu, L. Lee, D. Wei: Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with different amylose contents. Food Hydrocoll, **25** (2011) 968–975.
5. Leach, H. W.: Gelatinization of starch, in Starch: Chemistry and Technology. Eds. Whistler, R. L., E. F. Paschall, J.N. Bemiller, and H.J. Roberts. Academic Press, New York (1965).
6. Wasserman, B. P., and Y. Yu: Enzymes in amylose and amylopectin biosynthesis. in Handbook of Food Enzymology . Eds. Whitaker, J. R., A.G.J. Voragen, and D. W. S. Wong. Marcel Dekker, New York (2003).
7. Snow, P., K. O’Dea: Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. Am J Clin Nutr, **34** (1981) 2721-2727.
8. Suresh, K., N. Kiransree, L. Venkateshwar Rao: Utilization of damaged sorghum and rice grains for ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. Bioresour. Technol, **68** (3) (1999) 301-304.
9. Chuenchomrat, P., A. Assavanig, S. Lertsiri: Volatile flavour compounds analysis of solid state fermented Thai rice wine (Ou). SCIENCEASIA, **34** (2008) 199-206.
10. Dung, N. T. P.: Vietnamese rice-based alcoholic beverages. Int Food Res J, **20** (3) (2013) 1035-1041.
11. Cook, P. E., J.D. Owens, G.C. Platt: Fungal growth during rice tape fermentation. Lett Appl Microbiol, **13** (1991) 123-125.
12. Crabb, W. D.: Commodity scale production of sugars from starches. Curr Opin Microbiol, **2** (1999) 252-256.
13. Nout, M. J. R., K.E. Aidoo: Asian Fungal Fermented Foods, in The Mycota. Vol.X Industrial Applications. Ed. Osiewacz, H. D. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (2002).
14. Mu, X., , Y. Xu, W. Fan, H. Wang, Q. Wu and D. Wang: Solid-­State Fermented Alcoholic Beverages, in Solid State Fermentation for Foods and Beverages. Eds. Chen J. and Y. Zhu. CRC Press, Boca Raton, USA (2013) pp. 287–346.
15. Vlajnić, A.: Mogućnost upotrebe enzima pullulan-6-α-glukanohidrolaze (EC 3.2.1.41) u cilju unapređenja proizvodnje glukoznog sirupa, Master rad, Tehnološki fakultet Banja Luka, 2015.
16. Tucker, G.: Enzymes in food processing, New York, 1995.
17. Chen, S., Y. Xu: The influence of yeast strains on the volatile flavour compounds of Chinese rice wine. J. Inst. Brew, **116** (2010) 190-196.
18. Que, F., L. Mao, C. Zhu, G. Xie: Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. LWT-FOOD SCI TECHNOL, **39** (2006) 111-117.
19. AOAC Official Method 928.08, Nitrogen in meat (2000).
20. International standard: ISO 10520, Determination of starch content - Ewers polarimetric method (1997).
21. Lević, Lj., J. Lević, S. Sredanović, S. Đuragić, O. Kuljanin, T.R. Čolović: Bioethanol as Fuel – Statement, Perspectives and Technology of Production. Journal on Processing and Energy in Agriculture, **11** (4) (2007) 198-202.
22. Blesić, M.: Tehnologija vina Praktikum, www.tehnologija hrane.com. (2006).
23. Ugliano, M., B. Fedrizzi, T. Siebert, B. Travis, F. Magno, G. Versini, P.A. Henschke: Effect of nitrogen supplementation and *Saccharomyces* species on hydrogen sulfide and other volatile sulfur compounds in Shiraz fermentation and wine, J. Agric. Food Chem. **57** (2009) 4948–4955.
24. Bely, M., J.M. Salmon, P. Barre: Assimilable nitrogen addition and hexose transport system activity during enological fermentation, J. Inst. Brew. **100** (1994) 279–282.
25. Mendes-Ferreira, A., A. Mendes-Faia, C. Leão: Growth and fermentation patterns of *Saccharomyces cerevisiae* under different ammonium concentrations and its implications in winemaking industry, J. Appl. Microbiol. **97** (2004) 540–545.
26. Sroka, P., T. Tuszyński: Changes in organic acid contents during mead wort fermentation, Food Chem. **104** (2007) 1250–1257.
27. Pereira, A. P., A. Mendes-Ferreira, J.M. Oliveira, L.M. Estevinho, A. Mendes-Faia: High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production, Food Microbiol. **33** (2013) 114–123.
28. Kolb, E., G. Demuth, U. Schurig and K. Sennewald: Voćna vina - proizvodnja u kućanstvu i obrtu, ITD. Gaudeamus d.o.o., Požega. (2007).
29. Zoecklin, B., K. Fugelsang K., B. Gump and F. Nury: Wine Analysis and Production, Chapman & Hall, New York (2007).
30. Bely, M., A. Rinaldi, D. Dubourdieu: Influence of assimilable nitrogen on volatile acidity production by Saccharomyces cerevisiae during high sugar fermentation. J BIOSCI BIOENG, **96** (2003) 507–512.
31. Heikefelt,C.:Chemical and sensory analyses of juice, cider and vinegar produced from different apple cultivars. Degree project in the Horticultural Science Programme, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnapi, 2011.

**EFFECT OF DIFFERENT SUBSTRATE PROCESSING ON RICE WINE PRODUCTION**

Aleksandar Savić\*1, Ana Velemir1, Nataša Božić1, Dijana Maletić1, Vera Simic1, Ljubinka Momić1

1University of Banja Luka, Faculty of Technology, Banja Luka, e-mail: aleksandar.savic@unibl.rs, ana.velemir@tfbl.org, natasabozic20@icloud.com, maletic.dijana93@hotmail.com, simicvera@hotmail.com, ljubinka116@gmail.com

**Summary**

Sugar and syrup production from rice starch hydrolysates using enzymes has increased in recent years. This syrup is widely used in foods, and may also be used as a source of fermentable sugar in beverage production for the production of various alcoholic beverages (rice brandy, rice wine, etc.). In order to produce these beverages it is necessary to select high-quality raw material and carry out the hydrolysis and fermentation in an adequate manner. The aim of this study is to produce rice wine from three types of rice: sweet (“glutinous”) rice and round and long grain rice, which are subjected to hydrolysis and saccharification with commercial enzyme preparations Termamyl, Dextrozyme and Fungamyl or with starter culture for the production of rice wine called “yeast balls". Applied methods of hydrolysis had an influence on the speed of hydrolysis and dry matter content in hydrolyzed substrates. Different treatments of the hydrolyzed substrates had an influence on the speed of rice wine fermentation, on the amount of the alcohol formed during fermentation and on some other wine quality parameters.

Key words: rice, hydrolysis, rice wine