

# Prvé skúsenosti s používaním plesňových aktivátorov pri kvasení

ERICH MINÁRIK,

577.154:282.281/282

SAV — Výskumný ústav pre vinohradníctvo a vinárstvo, Bratislava

V mycéliu *Aspergillus niger* i v kultivačnej tekutine tejto plesne sú substancie, ktoré značne povzbudzujú kvasnú činnosť a rozmnožovanie kvasiniek. Už Nielsen a Hartelius [1, 2] dokázali prítomnosť aktívne pôsobiacich látok v kultivačnej tekutine *Aspergillus niger*. Tieto substancie zadelili do dvoch skupín, a to jednak k látkam patriacim k skupine „bios“, jednak k látkam tvoriacim vlastný aktivátor *Aspergillus* (tzv. Nielsenov aktivátor).

Aktivátor z *Aspergillus* je termostabilný, vodorozpustný a rezistentný voči kyslému a alkalickému prostrediu. Na rozdiel od „aktivátoru Z“ v *Eulera*, ktorý urýchľuje len fermentáciu, pôsobí Nielsenov aktivátor aj na rozmnožovaciu schopnosť kvasiniek. Fermentačná rýchlosť a počet kvasiniek sa v určitých prostrediach účinkom Nielsenovho aktivátoru zdvojnásobí.

Najmarkantnejšie sa aktivácia prejavuje v prvých dňoch kvasenia. Účinok Nielsenovho aktivátoru vysvetlil Kiessling [3], ktorý dokázal, že na začiatku fermentácie značne podporuje tvorbu a akumuláciu triózfosfátov, čím sa urýchľuje skvasovanie cukru. Nielsenov aktivátor pôsobí aj na tvorbu vedľajších produktov kvasenia. Tak sa jeho účinkom znižuje produkcia prchavých kyselín kvasinkami a zväčšuje produkcia kyseliny jantárovej [4].

Lafourcade [5] dokázala, že aj v mycéliu *Botrytis cinerea* a *Penicillium notatum* sú substancie, ktoré vykazujú tie isté vlastnosti ako mycélium *Aspergillus niger*, z čoho usudzuje, že väčšina plesní je schopná syntetizovať Nielsenov aktivátor.

## Vlastné pokusy

### Príprava plesňových aktivátorov

Pracovali sme s kultúrami *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum* a *Botrytis cinerea*. Sterilná hroznová šťava s cukornatosťou 170 až 180 g/l red. cukrov, 7 g/l titrovateľných kyselín a pH 3,20 sa pipetovala v množstve 300 ml do 1000 ml Erlenmeyerových baniek a inokulovala suspenziou spór príslušnej plesne. Banky sa inkubovali pri 25 °C v termostate po dobu 14 dní. Po tejto dobe sa rozrástnuté mycélium plesní stiahlo zo substrátu, dôkladne premývalo sterilnou destilovanou vodou, sušilo pri teplote 45 až 50 °C a dezodorizovalo etanolom [6].

Suché mycélium, jemne rozomleté, predstavovalo u *Aspergillus niger* šedočierny, u *Penicillium notatum* šedozelenkastý a u *Botrytis cinerea* šedohnedý prášok. Preparáty plesní sú vo vode málo rozpustné, ako sme to už uviedli v skoršej práci [7]. Soľva  $1/10$  preparátu je vodorozpustná, a teda skutočne účinná.

Laboratórne pokusy s aplikáciou plesňových aktivátorov boli uspokojujúce. Ukázalo sa, že preparáty pri dózovaní 0,5 g/l muštu značne urýchlili kvasenie muštu. Tak v mušte s cukornatosťou 245,5 g/l red. cukrov bola fermentačná rýchlosť druhý deň kvasenia 2,7krát, 4. deň 2,0krát a 6. deň 1,5 krát väčšia ako v mušte kontrolnom, bez aktivátora. Vidieť to z tab. I. Počet kvasničných buniek je udaný v miliónoch buniek v 1 ml, skvasený cukor v gramoch red. cukrov na 1 liter muštu.

| Kontrola                   | Počet buniek<br>Skvasený cukor | Deň kvasenia |       |                |                | Alkohol g/l<br>9. deň | Prchavé kyseliny g/l<br>(vyjadrené ako kyselina octová) |
|----------------------------|--------------------------------|--------------|-------|----------------|----------------|-----------------------|---|
|                            |                                | 2            | 4     | 6              | 9              |                       |   |
|                            |                                | 26,0         | 94,0  | 59,0<br>160,0  | 64,0<br>211,5  | 104,2                 | 1,14  |
| <i>Aspergillus niger</i>   | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 71,0         | 197,0 | 158,0<br>244,0 | 161,5<br>244,5 | 113,8                 | 0,65  |
| <i>Penicillium notatum</i> | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 70,0         | 192,5 | 153,5<br>241,5 | 160,0<br>243,5 | 113,0                 | 0,76  |
| <i>Botrytis cinerea</i>    | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 69,8         | 189,0 | 147,0<br>241,5 | 151,5<br>244,0 | 113,5                 | 0,65  |

Tabuľka I

| Kontrola                   | Počet buniek<br>Skvasený cukor | Deň kvasenia   |                |            |                | Alkohol g/l<br>13. deň | Prchavé kyseliny g/l<br>(vyjadrené<br>ako kyselina octová) |
|----------------------------|--------------------------------|----------------|----------------|------------|----------------|------------------------|--|
|                            |                                | 3              | 6              | 8          | 13             |                        |  |
|                            |                                | 87,5<br>40,1   | 104,0<br>107,5 | —<br>154,0 | 109,0<br>186,0 | 73,2                   | 1,90   |
| <i>Aspergillus niger</i>   | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 224,0<br>135,8 | 230,0<br>274,5 | —<br>291,0 | 239,0<br>293,4 | 110,8                  | 1,69   |
| <i>Penicillium notatum</i> | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 150,5<br>137,0 | 170,0<br>284,5 | —<br>296,5 | 174,0<br>298,0 | 110,0                  | 1,59   |
| <i>Botrytis cinerea</i>    | Počet buniek<br>Skvasený cukor | 185,0<br>123,5 | 191,0<br>255,5 | —<br>269,5 | 199,0<br>272,5 | 102,7                  | 1,69   |

Tabuľka II

Okrem značne urýchleného kvasenia v prvých dňoch fermentácie je značne stimulované aj rozmnožovanie kvasničných buniek. Obsah prchavých kyselín v 9. deň kvasenia je vo vzorkách s aktivátormi podstatne nižší ako vo vzorkách kontrolných. V kontrolnej vzorke muštu sa zaznamenala aj najnižšia produkcia etanolu v porovnaní so skúšanými vzorkami muštu s aktivátormi.

Podobné, ešte markantnejšie výsledky sme do stali aj pri kvasení muštu s vyššou koncentráciou cukru (388,8 g/l red. cukrov) tab. II.

Ako z tab. II vidieť, bolo v mušte s aktivátormi (*Aspergillus niger* a *Penicillium notatum*) v 13. deň kvasenia o viac ako 100 g/l red. cukrov viacej skvasených ako v kontrolnom mušte bez aktivátora. Mušt kvasený s aktivátorom *Botrytis cinerea* vykazoval v ten istý deň predstih v kvasení o 86,5 g/l red. cukrov. Obsah prchavých kyselín v kontrolnej vzorke bol opäť vyšší ako vo vzorkách s aktivátormi. Mušty s aktivátormi boli po 30dňovej fermentácii ďaleko prekvasenejšie ako kontrolný mušt.

Dôležitým poznatkom pri týchto pokusoch bolo, že vykvasené mušty s aktivátormi nezaostali po chufovej stránke za kontrolnými vzorkami. Toto nás nabádalo opakovať pokusy s plesňovými aktivátormi, a to nielen s hroznovým muštom, ale aj s ovocným muštom a so sladovkou.

Zatiaľ sa robili pokusy s hroznovým muštom, ríbežľovým muštom a so sladovkou.

Pri hroznovom mušte sme vychádzali z odrody vlašský rizling roč. 1956, s pôvodnou cukornatosťou 17<sup>0</sup>Kl, ktorý sme prilepšili do celkových 220,0 g/l red. cukrov repným cukrom. Pôvodný mušt mal 10,8 g/l titrovateľných kyselín. Mušt sa kvasil v 50litrových súdkoch v pivnici s teplotou 14°C. Aktivátory sme dózovali opäť v množstve 0,5 g/l muštu. Všetky mušty boli zakvasované 1% zákvasu čistých kultúr vínnych kvasiniek. Vína boli rovnako ošetrované (sirené, dopĺňané, stáčané). Po 5 mesiacoch bola prevedená chemická analýza a anonymné komisionálne degustačné posúdenie vzoriek. Výsledky týchto skúšok sú shrnuté v tab. III.

|                              | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Penicillium notatum</i> | <i>Botrytis cinerea</i> | Kontrola |
|------------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|----------|
| Špecifická váha (15°C)       | 0,9928                   | 0,9923                     | 0,9922                  | 0,9924   |
| alkohol obj. %               | 12,94                    | 12,94                      | 13,12                   | 12,39    |
| alkohol g/l                  | 102,7                    | 102,7                      | 104,2                   | 98,3     |
| extrakt                      |                          |                            |                         |          |
| všetok g/l                   | 24,3                     | 23,5                       | 23,2                    | 31,9     |
| neskvasený cukor g/l         | 1,2                      | 1,2                        | 1,2                     | 11,1     |
| extrakt bez cukru g/l        | 23,1                     | 22,3                       | 22,0                    | 20,8     |
| titrovateľné kyseliny g/l    | 7,9                      | 7,7                        | 7,9                     | 7,5      |
| prchavé kyseliny g/l         | 0,32                     | 0,30                       | 0,32                    | 0,32     |
| neprchavé kyseliny g/l       | 7,5                      | 7,3                        | 7,5                     | 7,1      |
| extraktový zvyšok g/l        | 15,6                     | 15,0                       | 14,5                    | 13,7     |
| Bodovanie (100bodový systém) | 82,7                     | 84,3                       | 82,9                    | 82,3     |

Tabuľka III

Kontrolné víno malo ešte neskvasený cukor a robilo celkový dojem nedokvaseného, mladého vína. Chufove boli všetky vína výrazné, harmonické a odrodové. Organoleptické posúdenie týchto vín jednoznačne ukázalo, že plesňové aktivátory sú vcelku bez vplyvu na chuť vína, čo ostatné vidieť aj z priemeru bodovania.

Obdobný pokus sme robili aj s ríbežľovým muštom. Upravený mušt s cukornatosťou 270,0 g/l red. cukrov a 10,9 g/l titrovateľných kyselín (vyjadrených ako kyselina citrónová) bol po egalizácii v kadi pretočený do 3 rovných sudov obsahu 200 až 220 litrov. Všetky mušty boli zakvasované čistou kultúrou vínnych kvasiniek (2% zákvasu). Dva sudy s muštom kvasili s aktivátormi (*Aspergillus niger* a *Botrytis cinerea*), tretí, kontrolný, bez aktivátora. Teplota počas kvasenia bola 10 až 11°C. Vína boli rovnako ošetrované a po 6 mesiacoch bola prevedená chemická analýza a organoleptické posúdenie vín v komisii. Výsledky sú shrnuté v tab. IV.

Vína boli vcelku vyrovnané, príjemnej ríbežľovej chuti. Kontrolná vzorka vyzkazovala najviac neskvaseného cukru a prchavých kyselín. Pachuť po plesni alebo cudzia prichuť neboli pozorované. Farba vína kvaseného s *Botrytis cinerea* bola

|                              | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Botrytis cinerea</i> | Kontrola |
|------------------------------|--------------------------|-------------------------|----------|
| Špecifická váha (15 °C)      | 1,0071                   | 1,0037                  | 1,0119   |
| alkohol obj. %               | 14,71                    | 15,19                   | 14,24    |
| alkohol g/l                  | 116,8                    | 120,6                   | 113,0    |
| extrakt všetok g/l           | 65,9                     | 58,7                    | 76,5     |
| neskvasený cukor g/l         | 39,0                     | 30,0                    | 45,0     |
| extrakt bez cukru g/l        | 26,9                     | 28,7                    | 31,5     |
| titrovateľné kyseliny g/l    | 10,4                     | 10,9                    | 10,9     |
| prchavé kyseliny g/l         | 0,56                     | 0,79                    | 0,85     |
| neprchavé kyseliny g/l       | 9,7                      | 10,0                    | 9,9      |
| extraktový zvyšok g/l        | 17,2                     | 18,7                    | 21,6     |
| Bodovanie (100bodový systém) | 87,6                     | 79,2                    | 86,4     |

Tabuľka IV

o niečo sýtejšia (ide tu asi o vplyv polyfenoloxydázy).

Pri pokuse s kvasením sladovky s aktivátormi sme vychádzali s upraveným zredeným sladovým výťažkom s cukornatosťou 315,6 g/l red. cukrov. Egalizovanú sladovú štavu sme pretočili do 4,30-litrových demizónov, zakvasili 2 % zákvasu čistej kultúry vínnych kvasiniek. Jedna štava kvasila bez aktivátora, ostatné sme kvasili za prídavku 0,5 g/l príslušného aktivátora. Po 6 týždňoch kvasenia (pri 18 °C) sa víno vyčistilo, pretočilo a podrobilo chemickej analýze. Výsledky sú shrnuté v tab. V.

|                           | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Penicillium notatum</i> | <i>Botrytis cinerea</i> | Kontrola |
|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|----------|
| Špecifická váha (15 °C)   | 1,0116                   | 1,0145                     | 1,0179                  | 1,0585   |
| alkohol obj. %            | 16,64                    | 16,15                      | 15,76                   | 10,00    |
| alkohol g/l               | 132,0                    | 128,2                      | 125,1                   | 79,3     |
| extrakt všetok g/l        | 83,8                     | 89,0                       | 97,5                    | 186,6    |
| neskvasený cukor g/l      | 43,0                     | 50,0                       | 49,6                    | 138,0    |
| extrakt bez cukru g/l     | 40,8                     | 39,0                       | 47,9                    | 48,6     |
| titrovateľné kyseliny g/l | 6,2                      | 6,3                        | 6,3                     | 6,1      |
| prchavé kyseliny g/l      | 0,85                     | 0,87                       | 0,87                    | 0,84     |
| neprchavé kyseliny g/l    | 5,2                      | 5,3                        | 5,3                     | 5,1      |
| extraktový zvyšok g/l     | 35,6                     | 33,7                       | 42,6                    | 43,5     |

Tabuľka V

Ako je vidieť z tab. V, zostala veľká časť cukru vo vzorke bez aktivátora neskvasená, čo potvrdzuje naše pozorovanie pri laboratórnych skúškach, že sa pri väčšej koncentrácii cukru stimulácia kvasenia aktivátormi prejavuje výraznejšie ako pri

priemernej koncentrácii. Plesňové aktivátory ani v tomto prípade nepriaznivo neovplyvnili chuť sladoviek. Nebola badať žiadna cudzia príchuť alebo pachut po plesni.

### Zhodnotenie výsledkov

Ako vysvitá z laboratórnych a štvrťprevádzkových pokusov s kvasením hroznových, ovocných a sladových vín plesňovými aktivátormi, urýchľujú tieto skvasovanie cukru, hlavne v prvej fázi kvasenia. Plesňové aktivátory majú priaznivý vplyv aj na hĺbku skvaseného cukru, čo sa najvýraznejšie prejavuje pri cukornatejších muštach. Máme za to, že by sa plesňové aktivátory osvedčili najmä pri kvasení ovocných a sladových vín a pri priamom kvasení cukornatých muštov na vysokú liehovitosť selektovanými kvasinkami pri výrobe dezertov [8]. Určité perspektívy sa črtajú aj pri výrobe sektov.

Plesňové aktivátory nemajú nepriaznivý vplyv na chuť a bukét vín, ako to ukázali početné zmyslové skúšky vín kvasených za prídavku aktivátorov. Tieto látky nemožno považovať za substancie cudzie vínu vzhľadom na to, že sa bežne vyskytujú na viniči a dostávajú sa tak aj do muštu. Pokiaľ by išlo o inhibičné (antibiotické) substancie, odstraňujú sa pri úprave mycélia.

Treba poznamenať, že výroba plesňových aktivátorov by nenarážala na väčšie ťažkosti vzhľadom na to, že by sa dali využívať odpady pri výrobe antibiotík a pri výrobe kyseliny citrónovej fermentačným spôsobom. Účinnosť týchto odpadov ešte nebola vyskúšaná.

Záverom možno konštatovať, že plesňové aktivátory predstavujú vedľa už známych a v zahraničí používaných aktivátorov alkoholického kvasenia muštov novú kategóriu produktov, ktoré sa zdajú mať budúcnosť. Vcelku sa plne potvrdili doterajšie skúsenosti francúzskych autorov s aplikáciou týchto aktivátorov kvasenia a je pravdepodobné, že by našli širšie použitie aj v iných odvetviach kvasnej technológie.

### Literatura

- [1] NIELSEN N., HARTELIUS V.: Comptes-rendus des travaux du Laboratoire Carlsberg 19 (1932) 8
- [2] NIELSEN N., HARTELIUS V.: Comptes-rendus des travaux du Laboratoire Carlsberg 22 (1937) 1
- [3] KIESSLING W.: Industries agricoles et alimentaires 66 (1949) 111
- [4] RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD É., LAFON M.: Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences 234 (1952) 757
- [5] LAFOURCADE S.: Thèses de la Faculté des Sciences de Bordeaux, Paris (1954)
- [6] RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD É., LAFOURCADE S.: Bulletin de la Société de Chimie biologique, Paris 27 (1955) 1055
- [7] Brevet d'invention, Paris (1943) No. 878, 989
- [8] MINÁRIK E.: Biológia 12 (1957)
- [8] MINÁRIK E., LAHO L.: Kvasný priemysl 2 (1956) 272