

## Biologické zdroje intenzifikácie vinárskej výroby

663.252:57

Doc. Ing. ERICH MINÁRIK, DrSc., Komplexný výskumný ústav vinohradnícky a vinársky, Bratislava

Biologizácia technologických procesov má aj vo vinárskej výrobe veľký význam, pretože prispieva nielen k intenzifikácii kvasne-fyziologických a biochemických pochodov, ale všeobecne vedie aj ku skvalitneniu základných surovín, polotovarov a hotových vinárskych výrobkov.

Limitujúcimi faktormi zintenzívnenia biologických a biochemických pochodov sú subjektívne i objektívne činitele. Subjektívne faktory vyplývajú z nepodloženej a výskumom i praxou dávno vyvrátenej predstavy o výhodách spontánných biologických pochodov pri výrobe vína (alkoholické a jablčno-mliečne kvasenie) a niektorých biochemických procesov pri spracovaní bielych a modrých kultivarov hrozna, pri školení a vyzrievaní vína.

Objektívne činitele vyvierajú z nárazových kampaňových (zberových) prác, pomerne krátkeho trvania zberu hrozna a jeho spracovania, nedostatku času a pracovných síl (príprava zákvasov, nedostatok propagátorov).

Docenenie problémov regulácie biologických a biochemických pochodov aplikáciou definovaných kultúr vínnych kvasiniek prípadne enzýmových prípravkov viedlo v mnohých krajinách s netradičným vinohradníctvom a vinárstvom, napr. v Japonsku, Austrálii, na Novom Zélande, JAR a pod., k podstatnému skvalitneniu vinárskych produktov. Zvýšenie stability vinárskych výrobkov úzko súvisí práve so zintenzívnením biologických pochodov najmä preto, že trend využívania chemických prostriedkov má aj vo vinárstve silne klesajúcu tendenciu.

Z uvedených dôvodov je potrebné, aby sa vinárska prax i výskum v súčasnej dobe i perspektívne ešte viac zamerali na využívanie všetkých dostupných foriem zintenzívnenia a skvalitňovania celého výrobného procesu aplikáciou aktívnych biologických činiteľov.

### INTENZIFIKÁCIA KVASNÉHO PROCESU

Doterajšie práce v oblasti genetiky kvasiniek ukázali, že šľachtiteľské metódy možno uplatňovať aj u vínnych kvasiniek, hoci je známe, že väčšina druhov a kmeňov je homotalická a heterozygótne, niektoré dokonca polya- alebo aneuploidné. Cieľom využívania jadrovej i mimojadrovej dedičnosti prípadne hybridizácie najmä heterotalických kmeňov je zvýšiť toleranciu voči etanolu, znížiť produkciu prchavých kyselín počas kvasenia, zvýšiť percento odbúrania neprchavých kyselín (malát, tartrát), doceliť nízku tvorbu síranu a sulfidu počas kvasenia atď. Špeciálnou doménou je vyšľachtenie tzv. nepeniacej kmeňov kvasiniek typu „killer“, t. j. využívanie mimojadrovej dedičnosti killerových kmeňov vínnych kvasiniek [4].

#### a) Kmene netvoriace počas kvasenia penu

Úkaz penenia kvasiacich muštov je nežiadúcou vlastnosťou kmeňa kvasiniek. Za penenie muštu zodpovedajú dva dominantné gény. Hybridizáciou vhodných kmeňov kvasiniek možno získať kultúry, ktoré nevyvolávajú penenie substrátov. Predpokladaná úspora kvasných priestorov je 5 až 10 %.

#### b) Killerové kmene kvasiniek

Fenotyp „killera“ kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* a *S. oviformis* sa vyznačuje zvýšenou fermentačnou schopnosťou, rezistenciou voči nepriaznivým podmienkam kvasenia, vyššou vitalitou a konkurencieschopnosťou voči „divým“ kmeňom kvasiniek. Krížením screeningom vyselektovaných killerových kmeňov kvasiniek so senzi-

tívnymi alebo neutrálnymi kmeňmi možno získať mimoriadne rezistentné a životaschopné hybridy vhodné pre veľkovýrobné fermentácie hroznových muštov a ovocných štiav [3].

#### c) Čisté kultúry selektovaných kmeňov kvasiniek

Výhody používania selektovaných kultúr vínnych kvasiniek vo vinárstve pred kvasením pôvodnou (autochtónnou) mikroflórou možno stručne zhrnúť takto [2]:

1. zabezpečujú urýchlenné započatie kvasného procesu, rovnomerný priebeh fermentácie a kompletne vykvasenie cukru muštu, čo je osobitne významné ako prevencia rôznych chorôb vína vyvolaných nežiadúcou bakteriálnou aktivitou (napr. slizovatenie, mliečne a manitové kvasenie, octové kvasenie a pod.),

2. umožňuje urýchlennú sedimentáciu kvasničných kalov v zrnitých aglomeráciách a vyčistenie mladého vína, čo umožňuje ďalej skoršie stáčanie z kalov,

3. zabezpečujú účinné bakteriálne odbúrание kyseliny L-jablčnej, ktoré prebieha paralelne s dokvasením mladého vína a tesne po ňom.

Komplexný výskumný ústav vinohradnícky a vinársky v Bratislave disponuje jednou z najväčších zbierok vínnych kvasiniek v Európe, v ktorej je 750 trvale udržiavaných kmeňov. Zbierka kvasiniek je integrálnou súčasťou Československej zbierky kvasiniek, ktorá je evidovaná aj v Svetovom katalógu zbierok kultúr mikroorganizmov pod patronátom UNESCO. Mnohé osvedčené technické kmene sú zavedené do veľkovýrobnej praxe výroby prírodných a šumivých hroznových vín i vín ovocných už viac ako 25 rokov. Mnohé ďalšie novoselektované kmene, napr. 81/G, 76/F, 74/D, R 279 atď., prešli úspešnými polprevádzkovými i prevádzkovými testami a sú už t. č. zavedené vo výrobe.

V súčasnej dobe dodáva KVÚVV priemerne 5000 až 7000 zákvasov čistých kultúr kvasiniek za rok vinárskemu i konzervárenskému priemyslu v ČSSR. Dodajme, že sa spotreba čistých kultúr kvasiniek každoročne zvyšuje priemerne o 10–15 %. Z uvedených dôvodov bude potrebné pokiaľ možno ešte v 7. päťročnici pristúpiť

a) k výrobe aktívnych suchých kvasiniek (ASK). V zahraničí, napr. v USA, NSR a Švajčiarsku sa takéto kultúry používajú už niekoľko rokov. Výhodou takýchto kultúr je, že odpadá propagácia kvasiniek. Vyriešenie výroby ASK by bolo veľkým prínosom nielen pre vinársku výrobu, ale aj pre príbuzné úseky fermentačnej výroby;

b) k širšiemu využívaniu existujúceho genofondu kmeňov selektovaných kvasiniek zbierky KVÚVV.

KVÚVV zabezpečí už v 7. SRP 15 až 20 štandardných kmeňov kvasiniek pre veľkovýrobné technológie prírodných bielych a červených vín, šumivých vín kvasených diskontinuítne i kontinuítne, ovocných vín a vín dezertných a korených.

Sortiment kmeňov druhov *S. cerevisiae* a *S. oviformis* pozostáva zo sulfítových, hlbokoprekvasujúcich, chladnomilných, teplomilných kmeňov a klónov rezistentných voči molekulovej kyseline siričitej, voči protibiotickým fungicídom, z kmeňov so zlomovou sedimentáciou atď.

Charakteristiku týchto kmeňov možno zhrnúť takto:

**Sulfítové kmene** tolerantné voči molekulovému oxidu siričitému: umožňujú bezodkladné začatie kvasenia muštu aj pri 8–9 mg.l<sup>-1</sup> molekulovej H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, čo pri pH 2,9 odpovedá 80–100 mg.l<sup>-1</sup> voľného SO<sub>2</sub>.

**Chladnomilné kmene** umožňujú lineárny priebeh fer-

mentácie aj za nižších kvasných teplôt (8–10 °C) a vykvasenie posledných zvyškov cukru bez prerušenia ešte v jesenných mesiacoch (odpadá nedokvasenie a tzv. jarne dokvášanie mladých vín), zabezpečujú väčší obsah prchavých vonných látok a nižší obsah prchavých kyselín.

Hlbokoprekvasujúce kmene umožňujú úplné vykvasenie muštov s vyššou cukornatosťou. Sú vhodné aj pre kvasenie šumivého vína za predpokladu, že sú súčasne chladnomilné, rezistentné voči alkoholu, dobre sedimentujú (pri klasickej výrobe sektu). Možno ich využívať aj pre nakvasovanie rmutu modrých kultivarov a pre prípravu prírodných sladkých vín s vyššou hladinou alkoholu.

Kmene rezistentné voči fungicídom sú univerzálne použiteľné na kvasenie muštov z hroziev ošetrovaných protibotrytickými, protiperonosporovými a protimúčnatkovými prípravkami. Významná je najmä odolnosť proti fungicídom na báze ftalimidu, TMTD, dichlofluenu, folpetu a pod.

#### VYUŽÍVANIE ENZÝMOVÝCH PRÍPRAVKOV

Pri intenzifikácii technologických procesov získavania muštu a ovocných štiav majú enzýmy značný význam. Vo vinárstve pripadá do úvahy aplikácia pektolytických a proteolytických enzýmových prípravkov. Kým používanie proteolytických enzýmov u nás nepresiahlo pokusné štádium, aplikácia pektolytických preparátov je v zahraničí využívaná už dávnejšie. V ČSSR sa v 60. rokoch pokusne používali, no neprinesli očakávaný efekt. Hlavným nedostatkom bola nízka aktivita a nedostatočná čistota domácich prípravkov.

V zahraničí je v súčasnosti široká ponuka pektolytických preparátov rôznych foriem. Dobré skúsenosti majú najmä v ZSSR. Pri ich použití sa všeobecne konštatuje skrátenie a uľahčenie lisovania, urýchlenie odkaľovania muštu, zvýšenie výlisnosti, ľahšie čírenie muštu a vína a zlepšenie filtrovateľnosti vín. Pozitívne sa prejavuje ich účinok aj na celkovej akosti vín, najmä zlepšenie arómy, chuti a celkovej stability. Niekedy sa však pozorovali aj nepriaznivé dôsledky, napr. prírastok obsahu trieslovín, príliš výrazný až dotieravý buket a zvýšenie obsahu popoľa. Preparáty pripravené z hýfovitej huby *Aspergillus niger* vykazujú okrem pektolytickej aktivity často aj iné vedľajšie a nežiaduce účinky, ktoré vedú k predčasnemu starnutiu a postupnému strácaniu kultivarového charakteru vína. Zvýšenie výlisnosti môže byť sprevádzané zvýšením podielu kalov, takže sa celková výťažnosť muštu a vína vlastne nezvyšuje.

Z uvedených dôvodov sa možno nazdávať, že ani v budúcnosti sa u nás pektolytické enzýmové preparáty nebudú aplikovať paušálne a v širšom meradle, iba ak pri spracovaní ťažšie lisovateľných kultivarov alebo ojediniele pri čírení a filtrácii ťažkofiltrovaťelných mladých vín. Opodstatnenie však má využívanie pektolytických enzýmových prípravkov pri výrobe muštov pre nealkoholické šťavy, kde by sa ich aplikáciou urýchlilo čírenie a tým zlepšila aj ich filtrovateľnosť.

#### UPŮTANÉ MIKROORGANIZMY A ENZÝMY

Možnosti širšieho uplatňovania imobilizovaných enzýmov možno využívať na kontinuálnu katalýzu a na automatizáciu katalyzovaných procesov pri stabilizácii vína proti bielkovinovým zákalom. Pre vinársku prax by sa perspektívne osvedčila asi v laboratórnych podmienkach vyskúšaná imobilizácia kyslej proteinázy *Aspergillus oryzae* metódou väzby na silikagél alebo  $\text{Al}_2\text{O}_3$  aktivovaného  $\text{TiCl}_4$ . Upútanie enzýmov kovalentnou väzbou na pevný nosič, zachytenie enzýmov v štruktúre gélu a imobilizácia proteinázy sú pomerne dobre rozpracované.

Pokusne skúšali pektolytické enzýmy v upútanych formách na rôznych materiáloch, napr. na bentonite, kreme-

line, celulóze, silikagéle, poréznom skle. Tento spôsob by umožnil ošetrovanie muštov a vín prietokom cez kolóny.

Vo Francii rozpracovali techniku viazania mikrobiálnych buniek (kvasiniek a baktérií) na vhodných nosičoch, použiteľnosť reaktorov a aplikáciu mono- a multi-enzýmových systémov vo vinárskej praxi. V podstate možno aplikovať tri cesty imobilizácie kvasiniek na nosičoch: 1. na báze adsorpcie, 2. inklúzií na géloch a 3. chemicky. Pre *S. cerevisiae* a *Lactobacillus* sp. sú vhodné ako nosiče sklo, drevo a pod. T. č. popisujú v podstate 4 typy reaktorov. Veľké možnosti sa črtajú pri aplikácii upútaných mikroorganizmov pri alkoholickom kvasení a pri bakteriálnom odbúravaní kyselín [1].

#### KONTINUITNÉ KVASENIE

Návrhy na kontinuálne kvasenie muštov sú známe už dávnejšie, avšak v prevádzkovom meradle sa tento spôsob, s výnimkou ZSSR, BLR a Španielska, v širšom rozsahu dosiaľ neuplatnil. Je nesporné, že kontinuálny spôsob kvasenia možno ľahšie mechanizovať a regulovať. Zdôrazňuje sa aj ekonomická výhodnosť z aspektu investičných i prevádzkových nákladov. Podľa všetkého sa však ekonomický efekt prejaví len pri celoročnom využití zariadenia. V krátkej sezónnej výrobe ako je vinárska, je ekonomická stránka sporná. U nás sa navrhlo zaviesť kontinuálnu fermentáciu hlavne z dôvodu, že pri ňom odpadá v porovnaní s periodickým (diskontinuítnym) kvasením fáza rozkvášania. To sa prejaví skrátením doby kvasenia a tým aj zvýšením využiteľnosti kvasných nádrží. Ten istý efekt sa však docielu aj použitím zákvasov aktívnymi suchými kvasinkami.

Kontinuálne kvasenie sa v širšom meradle uplatnilo pri výrobe sektu. V ZSSR sa prakticky skoro celá produkcia šumivých vín realizuje týmto spôsobom. V ČSSR sa tento pokrokový spôsob výroby sektu zaviedol v českých vinárskych závodoch v Starom Plzensci ešte začiatkom sedemdesiatych rokov. V súčasnosti je pred dokončením nová výroba vo Vinárskych závodoch v Seredi.

Napriek veľkým výhodám kontinuálneho spôsobu kvasenia sektu sa ešte úplne nepodarilo eliminovať isté rozdiely medzi výrobkami šumivého vína pripravených klasickou, resp. diskontinuítnou výrobou a kontinuítnym kvasením. Isté rozdiely sa týkajú tvorby niektorých vedľajších produktov kvasenia a produktov autolýzy kvasiniek. Z tohoto hľadiska bude aj v budúcnosti kontinuálne kvasenie šumivého vína naďalej predmetom výskumu podobne ako tomu je aj v Sovietskom zväze. Predpokladá sa tiež výber a pravidelná obmena kmeňov kvasiniek používaných na šampanizáciu z aspektu vhodnosti po stránke technologickej i z hľadiska akosti hotových výrobkov.

#### Literatúra

- [1] DIVIES, CH.: Les possibilités d'emploi des germes fixés en oenologie. Bull. O. I. V. 54, 1981, 843–858.
- [2] MINÁRIK, E.: Niektoré vinársko-technologické vlastnosti československých kmeňov vinných kvasiniek. Kvas. prům. 23, 1977, č. 9, s. 207–212.
- [3] MINÁRIK, E.: Systém killera vinnych kvasiniek a jeho význam pre vinárstvo. Vinohrad 18, 1980, č. 3, s. 62–63.
- [4] VEZINHET, F.: Quelques applications de la génétique des levures en oenologie. Methodologie et objectifs. Bull. O. I. V. 54, 1981, 830–842.

Minárik, E.: Biologické zdroje intenzifikácie vinárskej výroby. Kvas. prům., 28, 1982, č. 10, s. 227–229.

Existujú reálne predpoklady pre intenzívnejšie využívanie existujúceho fondu vysokoaktívnych kmeňov vinných kvasiniek pre diskontinuítné a kontinuálne kvasné procesy pri výrobe prírodných, šumivých a dezertných vín. Z hľadiska racionálnejšej a rýchlejšej prípravy zákvasov je účelné pristúpiť čo najskôr k výrobe a k praktickej aplikácii aktívnych suchých kvasiniek vo vinárskej



výrobe. Za účelom zvýšenia stability a kvality vinárskych výrobkov bude potrebné experimentálne odskúšať možnosti využívania upútaných mikroorganizmov a enzýmov pri alkoholickom kvasení, pri bakteriálnom odbúraní kyselín a pri školení vín. Odporúča sa tiež rozpracovať a aplikovať biologické a fyzikálne metódy urýchleného zrenia prírodných vín.

**Минарик, Э.: Биологические источники интенсификации виноделия.** Квас. прум., 28, 1982, № 10, стр. 227—229.

Существуют реальные предпосылки для более интенсивного использования существующих ресурсов высокоактивных штаммов винных дрожжей для прерывных и непрерывных броидильных процессов при производстве природных, шампанских и сладких вин. С точки зрения более рационального и более быстрого получения закваски представляется целесообразными приступить по возможности скорее к производству и практическому приложению активных сухих дрожжей при производстве вина. С целью повышения устойчивости и качества продуктов виноделия необходимо будет экспериментально испытать возможности использования связанных микроорганизмов и энзимов при спиртовом брожении, при бактериальном расщеплении кислот и при выдерживании вин. Рекомендуются также разработать и применить биологические и физические методы ускоренного созревания природных вин.

**Minárik, E.: Biological sources of wine production intensification.** Kvas. prŭm., 28, 1982, č. 10, s. 227—229.

There are reliable requirements to intensify the utilization of existing highly active yeast strain collection for discontinuous and continuous fermentation processes in the production of natural grape, sparkling and dessert wines. From the point of view of yeast starter production rationalization, the production of active dry yeast and its use in industrial fermentation is proposed as soon as possible. Possibilities of experimental verification of fixed microorganisms and enzymes utilization in alcoholic fermentation of grape juice, bacterial acid decomposition and wine development has been suggested. Biological and physical methods for wine maturing acceleration are proposed.

**Minárik, E.: Biologische Quellen zur intensivierung der Weinproduktion.** Kvas. prŭm., 28, 1982, č. 10, s. 227—229.

Es existieren reelle Voraussetzungen zur intensiveren Ausnützung bestehender hochaktiver Weinhefestämme für diskontinuierliche und kontinuierliche Gärungsprozesse bei der Herstellung von Natur-, Schaum- und Dessertweinen. Vom Standpunkt einer Rationalisierung der Produktion von Gäransätzen wird eine womöglichst baldige Herstellung und Verwendung aktiver Trockenhefepräparate angeregt. Zur Steigerung der Stabilität und Qualität der Weinprodukte wird vorerst eine experimentale Prüfung der Möglichkeit der Anwendung fixierter Mikroorganismen und Enzyme bei der alkoholischen Gärung, dem bakteriellen Säureabbau und beim Ausbau der Weine vorgeschlagen. Es wird empfohlen biologische und physikalische Methoden zur Beschleunigung der Reifung von Naturweinen auszuarbeiten und zu verwenden.