

Význam selektovaných vínnych kvasiniek vo vinárskej technológii

663.125
663.252.41

II. Časť: Príprava a charakteristika aktívnych suchých vínnych kvasiniek

Ing. FEDOR MALÍK, CSc. Katedra biochemickej technológie CHTF SVŠT Bratislava
Doc. Ing. ERICH MINÁRIK, DrSc. Komplexný výskumný ústav vinohradnícky a vinársky, Bratislava

Kľúčové slova: aktivní suché vinné kvasinky, fermentační aktivita

Príprava dostatočného množstva aktívnych suchých vínnych kvasiniek si vyžiadala realizáciu veľkoobjemových propagácií čistých kultúr vínnych kvasiniek v prevádzkach podnikov fermentačného priemyslu. Po overení technologických vlastností vybraných kmeňov kvasiniek, overení vhodnosti a optimalizácii zloženia vyhladených pôd sme uskutočnili propagáciu biomasy dvoma cestami. V podmienkach prevádzky Vinárskych závodov o. p. Pezinok v kampani 1980 sa realizovala anaerobná propagácia kvasiniek na upravenom hroznovom mušte [1]. Pred kampaňou 1982 sa overila cesta aerobnej propagácie čistých kultúr vínnych kvasiniek na melasovej zápare v podmienkach droždiarenskej výroby závodu Slovlik n. p. Trenčín [2, 3]. Získaná kvasničná biomasa sa spracovávala rozdielnymi postupmi do formy preparátov aktívnych suchých vínnych kvasiniek, pracovne označených názvami „Viakvas-fix“ a „Viakvas 82“ [4].

1. PROPAGÁCIA SELEKTOVANÝCH VÍNNYCH KVASINIEK

1.1 Propagácia čistých kultúr vínnych kvasiniek v podmienkach vinárskej výroby

V spolupráci s pracovníkmi výrobnéj praxe (Ing. M. Valachovič, technický riaditeľ GR VZ o. p. Bratislava a Ing. G. Vojteková, CSc., vedúca podnikového laboratória VZ o. p. Pezinok) sa v októbri 1980 realizovala vo Vinárskych závodoch o. p. Pezinok veľkoobjemová propagácia selektovaných vínnych kvasiniek kmeňa *Saccharomyces oviformis Tokaj 76/D* (V-10-25-34). Pri voľbe pracovných postupov sa rešpektovali technické možnosti, vyťažnosť i zásady hospodárnosti exploatovanej prevádzky.

Použitý kmeň kvasiniek je hlbokoprekvážajúci a voči

alkoholu rezistentný, izolovaný z vína slovenskej tokajskej oblasti. Skvasuje glukózu, sacharózu, manózu, maltózu a rafinózu do jednej tretiny. Technologicky je vhodný na prekvasovanie nedokvasených vín a výrobu šumivého vína. Silne pení a pomerne dobre znáša nižšie fermentačné teploty [5].

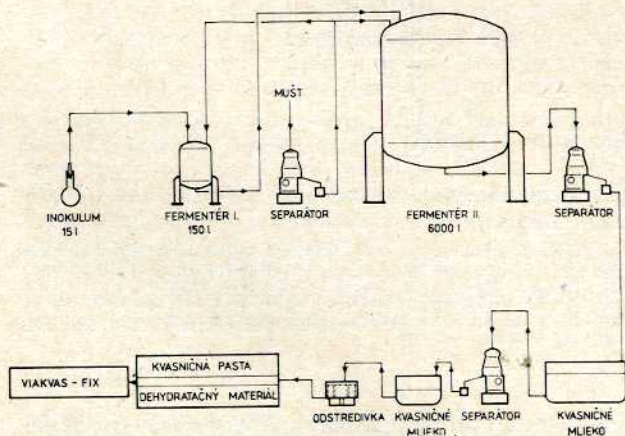
Obrázok 1 prináša schému prevádzkového experimentu propagácie *S. oviformis Tokaj 76/D*. Základné inokulum čistej kultúry o objeme 15 l bolo pripravené v mikrobiologickom laboratóriu KVÚVV v Bratislave. Následné dvojstupňové pomnoženie biomasy prebehlo vo výrobných priestoroch vinárskej prevádzky. Pôvodným inokulom sme rozkvasili 150 l odkaleného, sacharózou neupravovaného hroznového muštu. Desatpercentná inokulácia zabezpečila dôrazný priebeh fermentácie. Vo fáze logaritmického rozmnožovania, 72 h od počiatku kvaseňia, sme objemom 150 l zakvasili 6000 l (2,5% zákvas) separáciou odkalený a sacharózou neupravovaný mušt I. B bonity (pH = 3,2). Úpravu cukrnatosti muštu [16,2 °C/NM] sme z titulu mikrobiologicko-fyziologických požiadaviek na kvalitu budúcej biomasy nerobili. Kvasné médium bolo upravené strednou dávkou oxidu siričitého [24,8 mg voľného SO₂ · l⁻¹], jeho vnútorný kvasný povrch prídavkom suspenzie bentonitu [1 g · l⁻¹]. Priebeh kvasného procesu, chemicky i mikrobiologicky denne sledovaný, bol vzhľadom k nízkej teplote kvaseňia (12 °C) zdĺhavý. V siedmy deň experimentu, pri koncentrácii alkoholu 4,2 % obj., bola fermentácia prerušená.

V ďalšej fáze prác nasledovala trojstupňová separácia. Prvé dva stupne separácie prebehli na odstredivke Alfa Laval vo výrobných priestoroch vinárskej prevádzky, tretí stupeň na laboratórnej odstredivke. Po prvej separácii, v dôsledku kavitácie často prerušovanej, sme po nariadení vodou získali asi 1200 l kvasničného mlieka. Prvostupňovo získané kvasničné mlieko sme podrobili druhej separácii. Zachytávajúc hustejší podiel výstrelkov, sme získali 250 l kvasničného mlieka o sušine 10,5 % hmotn. Celý objem kvasničného mlieka sa v laboratórnych podmienkach pracne spracoval do formy kvasničnej pasty (asi 35 l, sušina 24,6 % hmotn.), ktorá bola načas uchovaná v boxe pri 0 °C.

1.2 Propagácia čistých kultúr vínnych kvasiniek v podmienkach droždiarskej výroby

V auguste 1982 sme uskutočnili experiment propagácie už prevádzkovo overeného kmeňa *S. oviformis Tokaj 76/D*. Schému technologických postupov experimentu, uskutočneného v droždiarni závodu Slovlik, n. p., Trenčín,* prináša obrázok 2.

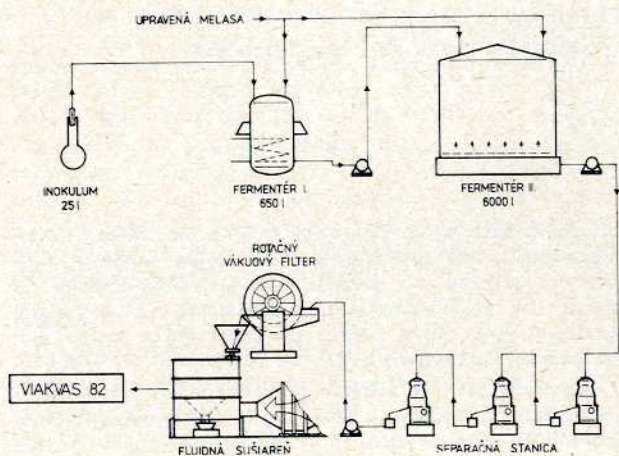
Dvojstupňová, periodická propagácia vínnych kvasi-



Obr. 1. Schéma prevádzkového experimentu propagácie čistých kultúr vínnych kvasiniek v podmienkach vinárskej výroby

* Za umožnenie experimentu načas poďakovať riaditeľovi závodu Ing. E. Kellermanovi a technologovi Ing. P. Halákov.

niek prebiehala na tepelne opracovanej melasovej zápare v dvoch nerezocelových tankoch o užitočnom objeme 650, event. 6000 litrov. Prevádzková aerobná fermentácia vychádzala z 25 l inokula pripraveného v mikrobiologickom laboratóriu Katedry technickej mikrobiológie a biochémie CHTF SVŠT v Bratislave.



Obr. 2. Schéma prevádzkového experimentu propagácie čistých kultúr vínnych kvasiniek v podmienkach droždiarskej výroby

Melasová zápara v prvom tanku bola upravená vodou na hustotu 13 °Bg, kyselinou sírovou na pH = 3,8, pririedená $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ (8 g.l⁻¹) a hodinu sterilizovaná ostrou parou. Po vychladnutí sme kvasné médium priradili Ca-pantotenátom (20 mg.l⁻¹) a inokulovali. Na potlačenie penenia sme pridali odpeňovací olej Contramin. Aerobná propagácia, vedená pri 28 °C, bola po 16 hodinách pri koncentrácii buniek $3,89 \cdot 10^5 \cdot \text{ml}^{-1}$ (sušina 0,86 · 100 ml⁻¹) prerušená.

Druhý stupeň propagácie prebiehal na melasovej zápare o hustote 12,6 °Bg a pH = 4,3. Pôda bola pririedená anorganickými živinami $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ 1,5 g.l⁻¹, $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 1,5 g.l⁻¹, $[\text{MgSO}_4]$ 0,03 g.l⁻¹ a vysterylizovaná ostrou parou. Po vychladnutí sa zápara priradila organickými živinami [Ca-pantotenát 25 mg.l⁻¹, biotín 0,05 mg.l⁻¹], ošetrila odpeňovacím olejom a zakvasila objemom z prvého tanku. Po 16 hodinách fermentácie (27–29 °C) bol proces propagácie pri koncentrácii buniek $4,81 \cdot 10^5 \cdot \text{ml}^{-1}$ (sušina 1,17 · 100 ml⁻¹) ukončený.

Niekoľkonásobným premývaním a zahusťovaním na batarii separátorov sme získali 530 l kvasničného mlieka o sušine 12,7 % hmotn. Mlieko sme uskladnili do nasledujúceho dňa pri 4 °C. Po vysolení prídavkom NaCl sme kvasničné mlieko zahusťovali na rotačnom vakuovom filteri (Alfa Laval Schnellfilter 6 m²) na sušinu 29 % hmotn. V ďalšom priebehu prác nasledovala granulácia vlhkého preparátu a fluidné sušenie vo fluidnej sušiarňi (Aeromatic AG, AET 1200 SP, CH-Muttentz). Po 210 min sušení (teplota 28–30 °C) sme získali 45 kg preparátu aktívnych suchých vínnych kvasiniek, pracovne nazvaného „Viakvas 82“.

2. PRÍPRAVA PREPARÁTOV AKTÍVNYCH SUCHÝCH VÍN- NYCH KVASINIEK

Preparáty aktívnych suchých vínnych kvasiniek možno získať dvoma pracovnými postupmi: uchovaním kvasiniek s pomocnými dehydratačnými materiálmi [6] a metódou fluidného sušenia [7]. Finalizácia technológie propagácie vínnych kvasiniek v podmienkach vinárskej

výroby (časť 1.1) exploatuje prvý pracovný postup. Propagácia čistých kultúr vínnych kvasiniek v podmienkach droždiarskej výroby (časť 1.2) je ukončená získaním preparátu ASVK cestou fluidného sušenia.

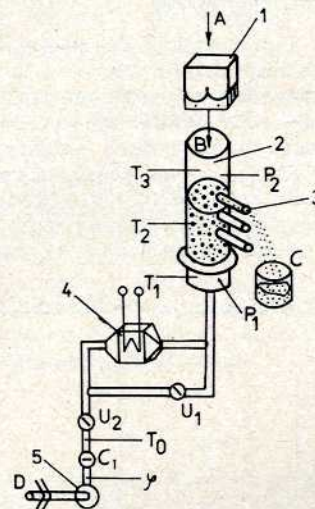
V laboratóriu i v prevádzkových podmienkach overiac oba možné spôsoby uchovávanía kvasiniek, pokladáme fluidný spôsob sušenia vínnych kvasiniek za najprogressívnejšiu metódu prípravy ASVK [8].

2.1 Uchovanie kvasiniek s pomocným dehydratačným materiálom

Sorpčná vlastnosť dehydratačného materiálu je daná množstvom milimólov vody, ktoré je schopné viazať jeho jeden gram. V časovom predstihu sme sorpčné vlastnosti vyhladených nosičov zistili metódou určovania parciálnych tlakov pomocou vodných roztokov kyseliny sírovej. Po zistení týchto vlastností sme vypočítali množstvo sorpčného materiálu, potrebného na viazanie asi 90 % vody. Ostatná vlhkosť v získanom preparáte je potrebná pre zachovanie životaschopnosti bunky v anabiotickom stave [9]. Zo všetkých, nami overených anorganických i organických dehydratačných materiálov, sa pre naše potreby najlepším ukázal Na-montmorillonit zo Slovakofarmy, n. p., Hlohovec [10].

Kvasničná pasta biomasy *S. oviformis* Tokaj 76/D, získaná v prevádzkovom experimente propagácie kvasiniek v podmienkach vinárskej výroby (časť 1.1), sa spracovala s Na-montmorillonitom vo vypočítanom hmotnostnom pomere do formy preparátu vínnych kvasiniek. Získaný preparát, pracovne nazvaný „Viakvas-fix“, sa po voľnom dosušení vyznačoval nasledovnými charakteristikami:

sušina	90,1 % hmotn.
celk. počet buniek	$1,3 \cdot 10^9 \cdot \text{g}^{-1}$
vitalita	96,8 %



Obr. 3. Schéma fluidnej sušiarne VÚCHZ Brno (podľa Berana)

A — lisovaná biomasa, B — granulovaná biomasa, C — suché kvasinky, D — sušiaci vzduch, 1 — granulator, 2 — sušiaci kolóna, 3 — výstup suchých kvasiniek, 4 — ohrievač vzduchu, 5 — ventilátor, T_0-T_3 — meranie teploty, P_1-P_2 — meranie tlaku, U_1-U_2 — regulácia prietoku, C_1 — meranie prietoku vzduchu, ϕ — meranie relatívnej vlhkosti vzduchu

Granulovaný preparát, balený pod ochrannou atmosférou inertného plynu, bol uchovávaný pri teplote 4 °C a 20 °C. Vitalita skladovaných materiálov bola dlhodobe kultivačne sledovaná. Po 22 týždňoch skladovania pri 4 °C predstavovala hodnotu 85,1 %, po 24 týždňoch sklado-

vania pri 20 °C získaný preparát ASVK charakterizovala vitalita 76,2 %.

2.2 Príprava aktívnych suchých vínnych kvasiniek cestou fluidného sušenia

Pochody prenosu tepla a hmoty prebiehajú vo fluidnom systéme mimoriadne rýchle. K odsušeniu biomasy z pôvodnej sušiny 27–30 % hmotn. na 90–92 % hmotn. dochádza v časoch niekoľkokrát kratších ako v mechanicky presypávanej vrstve. Prítom teplota biomasy sa pohybuje okolo 30 °C a proces prebieha za atmosférického tlaku [11]. Fluidná vrstva má tak veľmi priaznivé vlastnosti pre sušenie mikrobiálnej biomasy.

Po sérii experimentov so sušením kvasiniek fluidnou cestou, robených na prototypoch laboratórnych sušiarňí i na fluidnej sušiarňi skonštruovanej na Výskumnom ústave chemických zariadení v Brne (obrázok 3.), sme uskutočnili v droždiarni závodu Slovlik n. p. Trenčín fluidné sušenie kvasiniek v prevádzkovom merítke. Získaný preparát aktívnych suchých vínnych kvasiniek „Viakvas 82“ sa vyznačoval sušinou 90,5 % hmotn. a celkovým počtom buniek $3,8 \cdot 10^{10} \cdot g^{-1}$. Získaný preparát ASVK, balený pod inertnou atmosférou CO_2 po 16 g, sa uskladnil v chladiacom boxe pri teplote 4 °C. Počet živých buniek po 198 dňoch skladovania bol $2,21 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$, po 245 dňoch $1,57 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$.

3. DISKUSIA A ZÁVER

Medzinárodný úrad pre víno v Paríži (O. I. V.) deklaroval nasledovné charakteristiky pre aktívne suché vínné kvasinky [12, 13]:

vlhkosť:	max. 8 % hmotn.
vitalita:	$\geq 10^9 \cdot g^{-1}$ preparátu
počet kvasiniek iného druhu:	< 0,01 % revitalizovateľných buniek
počet hýfovitých húb a plesní:	< $1 \cdot g^{-1}$ preparátu
počet všetkých baktérií:	< $10^5 \cdot g^{-1}$ preparátu
rehydratácia:	max. 10 l vody $\cdot kg^{-1}$ preparátu
zákvas:	10–20 g $\cdot 100 l^{-1}$ muštu.

V podmienkach vinárskej výroby pripravený preparát „Viakvas-fix“ nespĺňa kritéria O. I. V., kladené na aktívne suché vínné kvasinky. Nevyvracia to však naše presvedčenie, že „nosičová“ forma preparátu ASVK by pre vinársku technológiu nebola nevýhodou. Načrtnutý jednoduchý spôsob úchovy vínnych kvasiniek je výhodný nielen ekonomicky (lacný a dostupný dehydratačný materiál, nulové investičné náklady) ale i technologicky. Vhodný dehydratačný materiál nielenže zväčšuje vnútorný kvasný povrch kvasného média, ale jeho prítomnosť je i prínosom v procese samočistenia mladého vína.

V podmienkach droždiarskej výroby pripravený preparát „Viakvas 82“ spĺňa základné kritéria O. I. V., kladené na aktívne suché vínné kvasinky. Navyše výsledky porovnávacích testov fermentačnej aktivity preparátu ASVK „Viakvas 82“ s obdobnými zahraničnými preparátmi, o ktorých informujeme na inom mieste [14], poukazujú na technologicky uspokojivé vlastnosti prvého, prevádzkovo pripraveného československého preparátu aktívnych suchých vínnych kvasiniek.

Literatúra

- [1] KARNIŠ F.: Technológia propagácie čistých kultúr vínnych kvasiniek (diplomová práca). ČHTF SVŠT Bratislava, 1981, s. 94.
- [2] HACA J.: Príprava a použitie aktívnych suchých vínnych kvasiniek (diplomová práca). ČHTF SVŠT Bratislava, 1983, s. 71.
- [3] TOMÁŠKOVÁ, M.: Propagácia vínnych kvasiniek na netradič-

- ných substrátoch (diplomová práca). ČHTF SVŠT Bratislava, 1983, s. 68.
- [4] MALÍK, F., MINÁRIK, E., VALACHOVIČ, M.: Preparation and application of active dried wine yeasts in Czechoslovakia. 3rd Symposium of Socialist Countries on Biotechnology, Bratislava, 20–29. 4. 1983, Abstracts of Posters B5–10.
- [5] MINÁRIK, E.: Niektoré vinársko-technologické vlastnosti československých kmeňov vínnych kvasiniek. Kvas. prům. 23, 1977, s. 207–212.
- [6] MALÍK, F.: Príprava aktívnych suchých vínnych kvasiniek. Vinárske zväzody o. p. Pezinok, TÚ č. 11/1981, s. 14.
- [7] MALÍKOVÁ, J.: Uchovávanie čistých kultúr vínnych kvasiniek (diplomová práca). ČHTF SVŠT Bratislava, 1982, s. 88.
- [8] BEKER, M. E., DAMBERG, B. E., RAPOPORT, A. J.: Anabioz mikroorganizmov. Zinatne Riga, 1981, s. 247.
- [9] KOVÁČOVÁ, V.: Jednoduché metódy uchovávania vínnych kvasiniek (diplomová práca). ČHTF SVŠT Bratislava, 1981, s. 84.
- [10] BERAN, Z.: Sušení pekařského droždí ve fluidní vrstvě. Kvas. prům., 26, 1980, s. 109–114.
- [11] ANONYM: Levures sèches actives en oenologie. Document No. 1006, O. I. V. Paris, septembre 1981, 1 s.
- [12] RADLER, F.: Études microbiologiques des levures sèches actives. 18e Réunion de la Sous-Commission „Microbiologie du Vin“ O. I. V., Paris 1980, 3 s.
- [13] MALÍK, F., MINÁRIK, E., KUTLÍK, K.: Untersuchungen über die Gärungsaktivität von Trocken-Reinzuchtheferpräparaten. Wein-Wissenschaft, 39, 1984 (v tlači).

Malík, F., Minárik, E.: Význam selektovaných vínnych kvasiniek vo vinárskej technológii. II. časť: Príprava a charakteristika aktívnych suchých vínnych kvasiniek. Kvas. prům. 30, 1984, No. 9, s. 197–200.

Práca prináša výsledky prevádzkových propagácií čistých kultúr vínnych kvasiniek, uskutočnených dvoma postupmi. V podmienkach vinárskej výroby, po anaerobnej propagácii kmeňa *S. oviformis* (Tokaj 76/D) bola získaná biomasa spracovaná s *Na-montmorillonitom* do formy preparátu Viakvas-fix [celkový počet buniek $1,3 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$, vitalita 96,8 %]. V podmienkach droždiarskej výroby, cestou aerobnej propagácie a fluidného sušenia *S. oviformis* (Tokaj 76/D) bol získaný preparát Viakvas 82. Po 8 mesiacoch skladovania vitalita preparátu ($1,57 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$) vyhovovala norme Medzinárodného úradu pre víno v Paríži.

Малик, Ф., Минарик, Е.: Значение селективных штаммов дрожжей в виноделии. 2 часть: Приготовление и характеристика активных сухих винных дрожжей. Квас. прум. 30, 1984, № 9, стр. 197–200.

В работе изложены результаты производства чистых культур винных дрожжей, приготовленных двумя способами. В условиях производства вина, после анаэробной пропагации штамма *S. oviformis* (Tokaj 76/D) полученную биомассу обработали с *Na-montmorillonit* в форму препарата «Вияквас-фикс» (общее количество клеток $1,3 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$, жизнеспособность 96,8 %). В условиях дрожжевого производства, путем аэробной пропагации и флуидного сушения биомассы *S. oviformis* (Tokaj 76/D) полученный препарат активных сухих винных дрожжей «Вияквас 82». После хранения в течении 8 месяцев жизнеспособность препарата ($1,57 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$) удовлетворяла норме Международного комитета для вино (O. I. V.) в Париже.

Malík, F., Minárik, E.: Importance of Selected Wine Yeasts in Wine Technology. 2nd Part: Preparation and Characteristics of Active dry Wine Yeasts. Kvas. prům. 30, 1984, No. 9, pp. 197–200.

The paper deals on results of pilot-plant preparations of pure yeast starters gained by two methods. In conditions of wine production the yeast biomass acquired by anaerobic propagation of the strain *S. oviformis* (Tokaj 76/D) elaborated with *Na-montmorillonite* the preparation „Viakvas-fix“ [total number of cells $1,3 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$, viability 96,8 %] was prepared. In conditions of baker's yeast production by aerobic propagation and fluid dessication of the biomass of *S. oviformis*

(Tokaj 76/D) the preparation of active dry wine yeast „Viakvas 82“ was gained. The viability of the preparation ($1,57 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$) after 8 months investigation was in conformity with the norm of the International Wine Office (O. I. V.) in Paris.

Malík, F., Minárik, E.: Bedeutung selektierter Weinhefen in der Weintechnologie. II. Teil: Bereitung und Charakteristik aktiver Trockenweinhefen. Kvas. prům. **30**, 1984, No. 9, S. 197—200.

In der vorliegenden Arbeit werden Ergebnisse der Betriebspropagation von Weinhefereinkulturen, die

durch zwei Vorgänge erhalten wurden, angeführt. In Bedingungen der Weinproduktion wurde die Hefebiomasse (Stamm *S. oviformis* Tokaj 76/D) nach anaerober Propagation mit Na-Montmorillonit in Form des Präparats „Viakvas-fix“ (Gesamtanzahl der Hefezellen $1,3 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$, Vitalität 96,8 %) verarbeitet. In Bedingungen der Bäckerhefeproduktion durch aerobe Propagation und Fluidtrocknung der Biomasse von *S. oviformis* (Stamm Tokaj 76/D) wurde das Präparat aktiver Trockenweinhefen „Viakvas-82“ hergestellt. Nach 8-monatiger Untersuchung wies das Präparat eine Vitalität ($1,57 \cdot 10^9 \cdot g^{-1}$), die der des Internationalen Weinamtes in Paris entspricht, auf.