

Niektoré mikrobiologické a biotechnologické problémy vo vinárstve

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

Kľúčové slová: kvasinky, aktivácia kvasenia, stabilita vína, oxid siričitý, sírovodík

Jednou z dôležitých úloh moderného vinárskeho priemyslu je zaiste zabezpečenie trvanlivosti fľašových vín všeobecne a biologickej stability osobitne. Tento problém je o to aktuálnejší, že časť konzumentov uprednostňuje vína s malým zvýškom neskvasených cukrov. Polosuchým a polosladkým vínom treba preto pri stabilizácii venovať zvýšenú pozornosť.

Mikrobiologické problémy stabilizácie fľašových vín

Dôkazy o výskyte osmotolerantných a chemotolerantných kvasiniek *Saccharomyces bailii* var. *bailii* a var. *osmophilus* v nealkoholických osviežujúcich nápojoch, sirupoch a vínach so zvýškom sacharidov sú známe (Sand 1980, Rankine a Pilone 1974, Minárik 1980). Tieto kvasinky sme izolovali vo veľkom počte a v značnej frekvencii vo fľašových vínach vykazujúcich prachový zákal alebo druhotné kvasenie v malokarpatskej, nitrianskej a znojemsko-mikulovskej vinohradníckej oblasti. Poznatky o tolerancii *S. bailii* voči povoleným potravinárskym konzervačným prostriedkom (oxid siričitý, kyselina sorbová a jej draselná soľ), ale aj iným konzervovadlám (napr. kyselina benzoová, 5-nitrofurylakrylová, dietyléster kyseliny pyrouhličitej a pod.) len podčiarkujú význam fyzikálnych stabilizačných metód uplatňovaných vo vinárstve (sterilná filtrácia, tepelné ošetrovanie vína).

Ako vyplýva z našich skorších štúdií, je výskyt vo vínach a zastúpenie *S. bailii* var. *bailii* v mikroflore mladých vín po prvom a druhom stočení z kvasničných kalov minimálny (1 resp. 6,7 %). V mladých vínach prevládajú skôr dokvasujúce *S. cerevisiae* a *S. oviformis*, prípadne kožkotvorné kandidy (*C. vini*, *C. krusei*) a hanzenuly (*H. anomala* var. *anomala*). Vo fľašových vínach je frekvencia a zastúpenie *S. bailii* var. *bailii* dominantné (tabuľka 1).

Tabuľka 1. Frekvencia a dominancia kvasiniek vo fľašových vínach malokarpatskej a nitrianskej oblasti roč. 1978—1979

Druh kvasiniek	Frekvencia vo vine %		Dominancia v kvasničnej flóre %	
	Pezinok	Nitra	Pezinok	Nitra
<i>S. bailii</i> var. <i>bailii</i>	55,5	100	64,5	98,3
<i>S. cerevisiae</i>	11,1	—	3,2	—
<i>H. anomala</i> var. <i>anomala</i>	11,1	—	3,2	—
<i>Torulopsis</i> sp.	33,3	—	25,8	—
<i>C. vini</i>	11,1	—	3,2	—
<i>Torulaspora rosei</i>	—	16,6	—	1,7

Stanovištom *S. bailii* var. *bailii* sú jednak koncentrované (zahustené) mušty sacharózu, v ktorej prevládajú osmotolerantné druhy kvasiniek (*S. bailii*, *Torulopsis* sp.), ale aj zariadenie fľašovacej linky. Naopak, na prirodných stanovištiach (hrozno) sa *S. bailii* prakticky nevyskytujú.

Najúčinnším preventívnym opatrením je sterilná (EK, membránová) filtrácia, prípadne kombinovaná s fľašova-

ním za tepla (50—55 °C). Kyselina sorbová a sorban draselný v koncentráciách povolených ČSN 56 7741 a 56 7742 nezabezpečujú bezpečnú stabilitu hotových fľašových vín.

V nízkoalkoholických hroznových vínach, najmä v silnejšie zasírených, môžu svojimi metabolitmi znížiť kvalitu aj *Saccharomyces ludwigii*, ktoré sa tu vyskytujú najmä do prvého stočenia z kalov. Včasná kremelinová filtrácia mladých vín však spravidla zníži, resp. eliminuje aj aktivitu týchto kvasiniek (Minárik 1977).

Opvplyvnenie priebehu kvasenia muštu rôznymi zásadami a aktivátormi

Pri kvasení muštov s vyššou cukornatosťou možno za prítomnosti aktivátora z hýfovitej huby *Botrytis cinerea* Persoon získať hlbšie prekvasenie cukru, teda vyššiu hladinu alkoholu a nižšiu koncentráciu prchavých kyselín popri lepšom využití sacharidov. So vzrastajúcim množstvom zásady možno stimuláciu kvasenia ešte umocniť (tabuľka 2).

Tiamín a fosforečnan amónny ako aj močovina majú len nepatrný vplyv na priebeh alkoholového kvasenia muštu a na zloženie mladého vína.

Dobré výsledky sme docielili aj aplikáciou tzv. zmiešaných čistých kultúr vinných kvasiniek *S. rosei* — *S. cerevisiae* alebo *S. rosei* — *S. oviformis* v pomere 9:1, ktorými možno podstatnejšie znížiť hladinu prchavých kyselín v hotovom produkte vďaka malej produkcii týchto nežiadúcich vedľajších produktov kvasenia *S. rosei* (tabuľka 3).

Zníženie obsahu SO₂ a H₂S v hroznových vínach

Oxid siričitý možno len sčasti považovať za prirodzený produkt, ktorý v množstve 10—40 mg.l⁻¹ vzniká činnosťou kvasiniek počas alkoholového kvasenia muštu. Selekcia a aplikácia kmeňov kvasiniek produkujúcich minimálne množstvo sulfitu, odkalovanie muštu odstredením alebo statickou sedimentáciou prispievajú k možnostiam ako znížiť dávky SO₂ do muštu a vína. S tým súvisí aj otázka aplikácie kmeňov kvasiniek, ktoré tvoria len minimálne množstvo sulfidu ($\leq 20 \mu\text{g.l}^{-1}$).

Pri šírení muštu a vína treba zohľadniť aktuálnu kyslosť (pH), pretože pri nižšom pH, teda vyššej acidite muštu, je protikvasinková i protibakteriálna aktivita SO₂ dôsledkom vyššej koncentrácie molekulej formy oxidu siričitého vyhranene väčšia.

Ak odhliadneme od muštov z hrozna napadnutého botrytidou, ktoré vyžadujú vyššie dávky SO₂ dôsledkom oxidizačných enzýmov, najmä lakázy, treba v súvislosti so zníženými povolenými koncentraciami SO₂ a iných cudzorodých látok prihliadať aj na väzbovosť oxidu siričitého v mušte a víne.

SO₂ sa nadväzuje v červených vínach na antokyány, v bielych a červených vínach a kvasiacich muštoch a rmutoch na acetaldehyd, pyruvát a α -ketoglutarát. SO₂ nadviazaný na acetaldehyd nie je disociovateľný, teda je úplne neúčinný. Na pyruvát nadviazaný SO₂ je taktiež len slabé aktívny pre svoju nepatrnú disociačnú schopnosť. SO₂ nadviazaný na kyselinu α -ketoglutarátovú možno označiť ako depótny: úbytkom voľného SO₂ sa časť oxi-

Tabuľka 2. Zloženie vína skvaseného stúpajúcim množstvom zákvasu s aktivátorom (B. c.) alebo bez aktivátora (K)
Cukornatosť muštu 336 g.l⁻¹

Ukazovateľ	Podiel (%) zákvasu							
	1		2		3		5	
	K	B. c.	K	B. c.	K	B. c.	K	B. c.
Alkohol % obj.	11,08	16,12	11,94	15,94	11,08	16,40	11,25	16,49
Produkcia CO ₂ (g. 300 ml ⁻¹)	22,70	36,80	26,90	38,10	24,40	37,90	25,00	38,20
Red. cukry g.l ⁻¹	188,0	84,0	134,0	86,0	142,0	74,0	142,0	68,0
Tit. kys. g.l ⁻¹	8,3	9,8	8,2	8,6	8,5	9,8	8,4	9,4
Prch. kys. g.l ⁻¹	1,02	1,16	1,42	0,90	0,96	1,20	1,32	0,91
SO ₂ celkový mg.l ⁻¹	46,1	32,0	44,8	32,0	44,8	33,3	58,0	29,5
pH	3,27	3,58	3,66	3,56	3,64	3,55	3,64	3,55
rH	28,7	20,8	25,2	20,5	24,5	21,1	24,5	20,9

Tabuľka 3. Zloženie vína po jeho vykvasení čistou a zmiešanou kultúrou vínnych kvasiniek

Pokusný variant	Alkohol % obj.	Red. cukry g . l ⁻¹	Kyseliny		pH	SO ₂ celkové mg . l ⁻¹	Úbytok CO ₂ (g . 300 ml ⁻¹)	Kultúra
			titr.	prch.				
			g . l ⁻¹					
1	7,25	116,0	13,7	0,23	3,16	21,8	18,00	čistá
3	13,78	9,6	13,9	0,80	3,15	43,6	34,40	
4	13,86	8,0	14,4	0,82	3,14	44,8	35,95	
5	13,42	24,0	14,0	0,67	3,15	39,7	33,00	zmiešaná
6	12,46	28,0	13,2	0,82	3,14	38,4	31,55	
7	13,78	24,0	13,7	0,66	3,16	38,4	34,85	
8	12,20	30,8	13,6	0,63	3,17	34,6	30,60	

Vysvetlivky k tabuľke 3:

1 — čistá kultúra *S. rosei*, 3 — čistá kultúra *S. cerevisiae*, 4 — čistá kultúra *S. oviformis*, 5 — zmiešaná kultúra *S. rosei* (9); *S. cerevisiae* (1), 6 — zmiešaná kultúra *S. rosei* (99); *S. cerevisiae* (1), 7 — zmiešaná kultúra *S. rosei* (9); *S. oviformis* (1), 8 — zmiešaná kultúra *S. rosei* (99); *S. oviformis* (1).

du siričitého z neho opäť uvoľňuje (Usseglio-Tomasset 1984). Účinnosť SO₂ závisí teda od substancií, na ktoré sa môže alebo nemôže nadviazať.

Aplikácia SO₂ pred kvasením značne stimuluje tvorbu acetaldehydu. Napríklad 100 mg.l⁻¹ do muštu dözovaného oxidu siričitého sa vytvorí o 50 mg.l⁻¹ acetaldehydu viac ako v nesirenom mušte; tento nadviaže až 75 mg.l⁻¹ SO₂, t. j. prakticky až 75 % pridaného SO₂, ktorý je takto ireverzibilne blokovaný kvasením vytvoreným acetaldehydom.

Sírením muštu sa mierne zvyšuje aj tvorba pyruvátu a α-ketoglutarátu: prídavkom 0,5 mg.l⁻¹ tiamínu sa toto zvýšenie úplne eliminuje. Prítomnosť tiamínu v mušte pred kvasením však nemá vplyv na tvorbu acetaldehydu. Tým, že tiamín silne znižuje tvorbu pyruvátu a α-ketoglutarátu a tým nadviazanie SO₂ na tieto medziprodukty kvasenia, možno celkovú potrebu SO₂ úmerne znížiť.

Nakoľko však tvorbu acetaldehydu tiamínom nemožno potlačiť, treba aplikáciu oxidu siričitého pri spracovaní hrozna, pred a počas kvasenia muštu značne obmedziť.

Nemožno však nevidieť aj selektívnu úlohu SO₂ pri potlačaní „divých“ druhov kvasiniek (*Kloeckera sp.*, *Candida sp.*) pri spontánnom i „čistom“ kvasení nesterilného muštu. Možno súhlasiť s názorom niektorých oenológov, že by sa dözovanie SO₂ malo obmedziť na šírenie mladých a zrejších sudových (tankových, cisternových) vín, kým šírenie rmutu a muštu pred kvasením by sa malo obmedziť naozaj len na nevyhnutné minimum. Odkalovanie muštu pri nízkych teplotách a rôzne iné fyzikálne-chemické zásahy pred kvasením by túto tendenciu zaiste urýchlili.

Je snaha nahradit oxid siričitý v mušte inými redukčnými pôsobiacimi látkami. Aplikácia týchto látok má značný význam pri spracovaní hrozna napadnutého hnilobou. V týchto prípadoch bez SO₂ pred kvasením t. č. sa ešte nemožno zaobiť. Preto, najmä v južných vinohradníckych krajinách, napr. v Taliansku a Španielsku, testovali nahradit SO₂ pokusne sírovodíkom (sulfidmi).

Sírovodík inaktivuje oxidázy (lakázu, tyrozínázu), pričom sa nadväzuje na prostetickú skupinu týchto enzý-

mov. Týka sa to hlavne lakázy, ktorú produkuje *Botrytis cinerea*. Podľa niektorých autorov možno oxid siričitý v prvej fáze spracovania hrozna na kvasenia muštu plne nahradit sulfidmi. Ako priemerná dávka sa uvádza 20 mg.l⁻¹ H₂S. V chemickom zložení a v senzoričských vlastnostiach takto ošetrovaných vín nemajú byť markantnejšie rozdiely v porovnaní s vínami ošetrovanými SO₂. Naopak, vína z muštov ošetrovaných H₂S vykazovali nízku hladinu ketokyselín a zníženú schopnosť nadväzovať SO₂, čo umožňuje podstatnejšie redukovať doterajšie dávky SO₂ do muštu a vína.

Literatúra

- [1] MINÁRIK, E.: Mitt. Klosterneuburg 27, 1977, 1—3.
- [2] MINÁRIK, E.: Mitt. Klosterneuburg 30, 1980, 238—240.
- [3] RANKINE, B. C., PILONE, D. A.: Amer. J. Enol. Viticult. 24, 1973, 55—58.
- [4] SAND, F.: Brauwelt 1980, 418—425.
- [5] USSEGLIO-TOMASSET, L.: 64e Assemblée Générale de l'O. I. V., Commission II-Technologie, Porto 1984.

Minárik, E.: Niektoré mikrobiologické a biotechnologické problémy vo vinárstve. Kvas. prům. 31, 1985, č. 7—8, s. 182—184.

Na základe podrobného ekologického výskumu mikrofóry hoto-vých vinárskych výrobkov sa poukazuje na nutnosť zvýšiť biologickú stabilitu fľašových vín vhodnými fyzikálnymi zásahmi. Uvádzajú sa výsledky dlhodobých pokusov s aktiváciou alkoholového kvasenia hrozňových muštov za stažených fermentačných podmienok rôznymi aktivátormi kvasenia. Podčiarkuje sa význam zníženia obsahu cudzorodných látok v mušte a víne najmä z hľadiska nutnosti redukovať hladinu SO₂ vo vínach a možnosti jeho nahrady vo vinárstve.

Минарик, Э.: Некоторые микробиологические и биотехнологические проблемы в виноделии. Квас. прум. 31, 1985, № 7—8, стр. 182—184.

На основе подробного экологического исследования винодельных изделий показывается необходимость повышения биологической стабильности бутылочных вин при помощи подходящих физических действий. Приводятся результаты долгосрочных экспериментов по активированию спиртового брожения виноградных соков при более затруднительных условиях ферментации разными активаторами брожения. Подчеркивается значение по-

нижения содержания посторонних веществ в виноградном соке и вине, особенно с точки зрения необходимости понижения содержания двуокиси серы в винах и возможности его замены в виноделии.

Minárik, E.: Some microbiological and biotechnological problems in wine making. Kvas. prům. **31**, 1985, No. 7—8, pp. 182—184.

Based on detailed ecological research on the microflora of bottled wines the importance of increased biological stability of wines by suitable physical treatment is underlined. Results of long-term research on the stimulation of alcoholic fermentation of grape must under unfavourable fermentation conditions by different activators are given. The importance of decrease of extraneous substances in must and wine from the point of view

of reducing SO_2 content in wines and possibilities of its substitution in wine making is discussed.

Minárik, E.: Einige mikrobiologische und biotechnologische Probleme der Weinbereitung. Kvas. prům. **31**, 1985, Nr. 7—8, S. 182—184.

Aufgrund eingehender ökologischer Untersuchungen der Mikroflora von Flaschenweinen wird auf die Notwendigkeit der Erhöhung ihrer biologischen Stabilität durch geeignete physikalische Maßnahmen hingewiesen. Es werden Ergebnisse langjähriger Untersuchungen mit der Stimulierung der alkoholischen Gärung des Mostes unter ungünstigen Gärbedingungen durch verschiedene Aktivatoren angeführt. Die Bedeutung der Herabsetzung von Fremdstoffen im Most und Wein, vor allem vom Standpunkt der Herabsetzung von Schwefeldioxid im Wein und Möglichkeiten seiner Ersetzung in der Weinbereitung wird unterstrichen.