

# TECHNOLOGICKÉ VLASTNOSTI ETANOLTOLERANTNÝCH VÍNNYCH KVASINIEK *Saccharomyces cerevisiae* RADU FV

Doc. Ing. FEDOR MALÍK, CSc., Ing. SOŇA SITOROVÁ, RNDr. VALTER VOLLEK, Ing. KATARÍNA LINCZÉNYIOVÁ, Chemickotechnologická fakulta STU, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

**Kľúčové slová:** víno, technologické vlastnosti, etanoltolerantné vínne kvasinky

## 1. ÚVOD

Aplikácia moderných metód ošetrovania a školenia vína, výroby hroznových vín a ich stabilizácie nie je možná bez poznania a využívania existujúceho fondu vínnych kvasiniek. Podmienkou efektívnosti vinárskej technológie je poznanie vlastností použitých mikroorganizmov a využitie možností fyzikálno-chemickej a biologickej regulácie kvasného procesu [1, 2]. Pri štúdiu vlastností kvasiniek upotrebitelných vo vinárskej praxi, resp. pri selekcii kmeňov vínnych kvasiniek sa sledujú vplyvy biologických (spontánne kvasenie, kvasenie čistou kultúrou), fyzikálnych (teplota, pH) a chemických (etanol, koncentrácia sacharidov,  $\text{SO}_2$ , rezíduá) činiteľov na metabolizmus kvasiniek. Okrem nich sa zisťujú aj iné v praxi vyžadované vlastnosti (flokulácia, tvorba peny, produkcia vedľajších metabolitov) [3, 4]. Biologické činitele regulácie kvasenia sú prvoradé. Živelnosť a náhodnosť spontánneho kvasenia možno nahradiť kontrolovaným kvasením čistými kultúrami kvasiniek. Pri hľadaní a príprave nových kmeňov vínnych kvasiniek so žiadanými vlastnosťami sa využívajú rôzne metodické prístupy. Výsledkom selekcie sú čisté kultúry, ktoré sa v súčasnosti uplatňujú vo forme kvapalných zákvasov a aktívnych suchých vínnych kvasiniek [5, 6].

Technologicky významnou skupinou kvasiniek je skupina etanoltolerantných vínnych kvasiniek, ktoré sa vyznačujú vysokým stupňom konverzie substrátu, zabezpečujú vykvasenie cukru do sucha. Možno ich používať na účely dokvášania a najmä v technológii sekundárneho kvasenia pri výrobe šumivých vín [7]. Kmene tolerantné k etanolu možno získať riadenou selekciou, napr. kultiváciou za kontrolovaných podmienok, alebo metódou genetickej manipulácie. Predpokladá sa, že etanoltolerancia sa dá potenciovať buď cieľenou reguláciou biosyntézy mastných kyselín, alebo regulovanou inkorporáciou ochranných látok (steroly, deriváty kyseliny olejovej) do membrány buniek. Etanoltolerancia u *S. cerevisiae* spočíva v zmene organizácie a permeability membrány. Hraničná koncentrácia etanolu, pri ktorej sa prírodné kmene ešte rozmnožujú a kvasia, je 17 % obj., pre väčšinu kmeňov je táto hranica nižšia ako 14 % obj. [8, 9]. Najlepším indikátorom tolerancie kvasiniek voči etanolu je inhibícia fermentačných schopností, či porovnanie tejto tolerancie s množstvom vytvoreného etanolu [10].

## 2. MATERIÁL A METÓDY

V práci sme sledovali fermentačné schopnosti pia-

tich testovaných kmeňov *S. cerevisiae* radu FV a dvoch porovnávacích kmeňov vínnych kvasiniek.

### 2.1 Testované kmene *S. cerevisiae* radu FV

*S. cerevisiae* FV 1 – FV 5 – etanoltolerantné izoláty z dokvášajúcich vín a sedimentov kvasničnej biomasy zo Skalicko-záhorskej a Malokarpatskej vinohradníckej oblasti [11].

### 2.2 Porovnávacie kmene kvasiniek

*S. cerevisiae* 13 RVV a Bratislava 1 – hlbokoprevážajúce a osmotolerantné izoláty z vín Rizling vlašský a Veltlínske zelené z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti [11].

### 2.3 Použité fermentačné pôdy

Desulfítovaný zahustený hroznový mušt (Malokarpatský vinársky podnik, a. s., Pezinok):

redukujúce cukry	520 g.l <sup>-1</sup>
celkový $\text{SO}_2$	56,3 mg.l <sup>-1</sup>
voľný $\text{SO}_2$	3,2 mg.l <sup>-1</sup>
celkové kyseliny	7,9 g.l <sup>-1</sup>
obsah redukujúcich cukrov po úprave	210 g.l <sup>-1</sup>
pH	3,5

Odrodové hroznové víno Rizling rýnsky, pochádzajúce zo Školského majetku SVOŠ Modra:

redukujúce cukry	2,3 g.l <sup>-1</sup>
celkový $\text{SO}_2$	65,3 mg.l <sup>-1</sup>
voľný $\text{SO}_2$	17,3 mg.l <sup>-1</sup>
celkové kyseliny	10,2 g.l <sup>-1</sup>
alkohol	11,2 % obj.
obsah redukujúcich cukrov po úprave	24 g.l <sup>-1</sup>

### 2.4 Pracovné postupy

Vopred pripravenú suspenziu jednotlivých kmeňov kvasiniek sme použili na inokuláciu hroznového muštu (primárna fermentácia), resp. hroznového vína (sekundárna fermentácia).

#### Sledovanie priebehu primárnej fermentácie

Nariedený hroznový mušt (210 g.l<sup>-1</sup> redukujúcich cukrov) po úprave kyslosti (pH = 3,5) sme rozdávkovali do 500 ml sterilných liekoviek z tmavého skla a inokulovali zákvasom čistej kultúry jednotlivých kmeňov vínnych kvasiniek ( $5 \cdot 10^6$  buniek v 1 ml) v paralelných pokusoch. Kvasné fľaše sme uzavreli kvasnými zátkami a priebeh fermentácie sledovali pri 15 °C gravimetricky denným vážením úbytku  $\text{CO}_2$  do konštantnej hmotnosti. Po skončení fermentácie sme vy-



počítali úbytok  $\text{CO}_2$  v % hmotn. a urobili sme analýzu mladých vín.

#### Sledovanie priebehu sekundárnej fermentácie

Pre potreby sekundárnej fermentácie sme použili odrodové hroznové víno, ktoré sme upravili na obsah  $24 \text{ g.l}^{-1}$  redukujúcich cukrov. V ďalších častiach testov sme pokračovali ako v prípade primárnej fermentácie.

#### Analytické metódy

Analytickými metódami sme stanovili redukujúce cukry (podľa Schoorla), voľný a celkový  $\text{SO}_2$  (jodometricky), alkohol (oxidimetricky) a titrovateľné kyseliny (acidimetricky) [3].

### 3. VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky fermentačnej aktivity kmeňov kvasiniek v primárnej fermentácii hroznového muštu sú uvedené v tabuľkách 1 a 2 a sú aritmetickým priemerom dvoch nezávislých experimentov sledovaných v paralelných zostavách. Charakteristiky testov fermentačnej aktivity vzťahujeme na 14. deň fermentácie, kedy sa koncentrácia zvyškových cukrov pohybovala v rozmedzí  $1,75\text{--}4,65 \text{ g.l}^{-1}$ , množstvo naprodukovateľného alkoholu sa pohybovalo v rozpätí  $12,1\text{--}12,7 \%$  obj. Dosiahnuté výťažkové koeficienty  $Y_{\text{P/S}}$  svedčia o uspokojivej efektívnosti fermentácie a konverzie substrátu. Vyšší výťažkový koeficient je významný z ekonomického hľadiska a znamená v prípade úpravy cukrnosti hroznových muštov značnú úsporu cukru. Najvyšší výťažkový koeficient sme zaznamenali u referenčného kmeňa *S. cerevisiae* 13 RVV, výťažkové koeficienty testovaných kmeňov vinných kvasiniek radu FV boli nižšie.

Tab. 1 Testy fermentačnej aktivity vinných kvasiniek v primárnej fermentácii hroznového muštu ( $S_0 = 210 \text{ g.l}^{-1}$ ,  $X_0 = 5 \cdot 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$ )

<i>S. cerevisiae</i>	Tvorba $\text{CO}_2$ [g/100 g]							
	Deň fermentácie							
	3.	4.	5.	6.	11.	12.	13.	14.
FV 1	0,03	0,16	2,25	4,72	9,79	10,01	10,11	10,17
FV 2	0,67	2,59	4,41	5,87	9,13	9,41	9,62	9,80
FV 3	3,58	5,60	7,32	8,23	9,94	10,05	10,18	10,23
FV 4	6,32	7,55	8,47	9,03	10,08	10,14	10,20	10,26
FV 5	7,37	8,25	8,95	9,34	10,16	10,19	10,22	10,24
Bratislava 1	0,75	2,08	3,78	5,39	9,41	9,86	10,09	10,23
13 RVV	5,77	7,45	8,51	8,77	10,06	10,13	10,18	10,24

Tab. 2 Záverečné charakteristiky primárnej fermentácie hroznového muštu

<i>S. cerevisiae</i>	$S$ [g.l <sup>-1</sup> ]	$P$ [% obj.]	$Y_{\text{P/S}}$
FV 1	2,25	12,30	0,48
FV 2	4,65	12,10	0,47
FV 3	2,20	12,50	0,48
FV 4	2,10	12,50	0,48
FV 5	1,75	12,55	0,48
Bratislava 1	2,05	12,65	0,48
13 RVV	2,25	12,70	0,49

Cieľom testov v podmienkach sekundárnej fermentácie bolo poukázať na špecifické etanoltolerantné vlastnosti testovaných kmeňov kvasiniek. Výsledky fermentačnej aktivity jednotlivých kmeňov v priebehu sekundárnej fermentácie vína a ich charakteristiky sú uvedené v tabuľkách 3 a 4. Charakteristiky fermentačnej aktivity boli analyzované v 14. deň fermentácie. Všetky vína boli prekvasené takmer do sucha (rozmedzie redukujúcich cukrov:  $0,62\text{--}0,89 \text{ g.l}^{-1}$ ), ale hodnoty výťažkových koeficientov boli nižšie ako v prípade primárnej fermentácie ( $Y_{\text{P/S}} = 0,41\text{--}0,44$ ), množstvo naprodukovateľného etanolu sa pohybovalo v rozpätí  $1,15\text{--}1,30 \%$  obj. Najvyšší výťažkový koeficient dosiahol referenčný kmeň *S. cerevisiae* Bratislava 1, porovnateľnú hodnotu výťažkového koeficientu dosiahol kmeň *S. cerevisiae* FV 3.

Tab. 3 Testy fermentačnej aktivity vinných kvasiniek v sekundárnej fermentácii hroznového muštu ( $S_0 = 24 \text{ g.l}^{-1}$ ,  $X_0 = 5 \cdot 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$ ,  $P_0 = 11,4 \%$  obj.)

<i>S. cerevisiae</i>	Tvorba $\text{CO}_2$ [g/100 g]							
	Deň fermentácie							
	3.	4.	5.	6.	11.	12.	13.	14.
FV 1	0,14	0,22	0,32	0,57	0,71	0,87	0,96	1,17
FV 2	0,12	0,25	0,35	0,61	0,78	0,94	1,04	1,23
FV 3	0,33	0,44	0,51	0,93	1,13	1,17	1,21	1,27
FV 4	0,06	0,16	0,25	0,74	0,90	1,01	1,13	1,25
FV 5	0,07	0,16	0,28	0,78	0,92	1,10	1,16	1,25
Bratislava 1	0,06	0,14	0,24	0,91	1,08	1,16	1,21	1,35
13 RVV	0,13	0,40	0,43	1,04	1,17	1,20	1,22	1,37

Tab. 4 Charakteristiky testov fermentačnej aktivity vinných kvasiniek (sekundárna fermentácia)

<i>S. cerevisiae</i>	$S$ [g.l <sup>-1</sup> ]	$P$ [% obj.]	$Y_{\text{P/S}}$
FV 1	0,84	12,55	0,42
FV 2	0,82	12,55	0,41
FV 3	0,72	12,60	0,44
FV 4	0,89	12,60	0,42
FV 5	0,80	12,60	0,42
Bratislava 1	0,62	12,70	0,44
13 RVV	0,74	12,60	0,43

Legenda:  $S$  – koncentrácia redukujúcich sacharidov  
 $P$  – koncentrácia etanolu  
 $Y_{\text{P/S}}$  – výťažkový koeficient  
 $X_0$  – počiatočná koncentrácia buniek

Fermentačné vlastnosti testovaných kmeňov vinných kvasiniek *S. cerevisiae* radu FV sú v podmienkach primárneho kvasenia muštu v korelácii s technologicky významnými kmeňmi vinných kvasiniek ( $Y_{\text{P/S}} = 0,47\text{--}0,48$ ). Cieľom sekundárnej fermentácie bolo preskúšať etanoltolerantné vlastnosti testovaných kmeňov vinných kvasiniek a porovnať ich s bežne používanými kmeňmi kvasiniek v technológii výroby šumivých vín. Testy v podmienkach sekundárnej fermentácie dokumentujú dobré vlastnosti testovaných



kmeňov ( $Y_{P/S} = 0,41-0,44$ ), pričom kmeň *S. cerevisiae* FV 3 bol z tohto pohľadu najvýkonnejší.

Táto štúdia zavŕšila náš záujem o komplexnú charakterizáciu prírodných izolátov vínnych kvasiniek *S. cerevisiae* radu FV. O mikrobiologických, kultivačných a biochemických a genetických vlastnostiach týchto kmeňov informujeme na inom mieste [12, 13, 14]. Etanoltolerantné kvasinky *S. cerevisiae*, ktorých vlastnosti komplexne preverili naše práce, sú určené do vinárskej praxe pre potreby biologicky regulovanej fermentácie hrozňového muštu i vína. Uvažuje sa o ich využití v technológii výroby preparátov aktívnych suchých vínnych kvasiniek (ASVK).

#### LITERATURA

- [1] SHÜTZ, M. et al.: Obst. und Weinbau, **5**, 1995, s. 119–122.
- [2] DELFINI, C.: Vignevini Ricera, **22**, 1995, s. 12–15.
- [3] MINÁRIK, E., NAVARA, A.: Chémia a mikrobiológia vína. Príroda, Bratislava 1986, 404–438.
- [4] TERASA-RAMOS, M., MADEIRA-LOPES, A.: Bio-technol. Lett., **2**, 1990, s. 229–234.
- [5] MALÍK, F., et al.: Kvas. prům., **32**, 1986, s. 29–33.
- [6] LORENZINI, F.: Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic., **26**, 1994, s. 99–102.
- [7] VOLDŘICH, R.: Technologie šumivých vín. SNTL, Praha 1984, s. 55–60.
- [8] JIMENÉZ, J., BENÍTEZ, T.: Appl. Environ. Mikrobiol., **53**, 1987, s. 1196.
- [9] ŠAJBIDOR, J., MALÍK, F., GREGO, J.: Vinohrad, **12**, 1992, s. 178–179.
- [10] D'AMORE, T., et al.: Rev. in Biotechnol., **9**, 1990, s. 287–304.
- [11] VOLLEK, V., et al.: Vinohrad, **31**, 1993, s. 67–69.
- [12] MALÍK, F., et al.: Biológia, **51**, 1996 (v tlači).
- [13] MALÍK, F., et al.: Biológia, **51**, 1996 (v tlači).
- [14] SITOROVÁ, S., et al.: Vinohrad, **32**, 1994, s. 84–85.

Lektorovala Ing. I. Hollerová  
Do redakcie došlo 12. 3. 1996

**Malík, F. – Sitorová, S. – Vollek, V. – Linczényiová, K.: Technologické vlastnosti etanoltolerantných vínnych kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* radu FV. Kvas. prům. **42**, 1996, č. 5, s. 168–170.**

Práca overuje technologické vlastnosti prírodných izolátov etanoltolerantných vínnych kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* radu FV s cieľom ich využitia v procese výroby šumivého vína. Fermentačné vlastnosti testovaných kmeňov boli v podmienkach primárneho kvasenia muštu v korelácii s vlastnosťami referenčných kmeňov vínnych kvasiniek. Výťažkové koeficienty sa pohybovali v intervale  $Y_{P/S} = 0,47-0,48$ . Výsledky v podmienkach sekundárnej fermentácie rovnako dokumentujú dobré vlastnosti testovaných kmeňov ( $Y_{P/S} = 0,41-0,44$ ), pričom kmeň *S. cerevisiae* FV 3 bol z tohto pohľadu najvýkonnejší.

**Malík, F. – Sitorová, S. – Vollek, V. – Linczényiová, K.: Technological Properties of Ethanol-Tolerant Wine Yeast *Saccharomyces cerevisiae* series FV. Kvas. prům., **42**, 1996, No. 5, p. 168–170.**

Technological properties of natural isolates of alcohol tolerant wine yeasts *Saccharomyces cerevisiae* of the FV series had been examined for their application possibility in the process of sparkling wine production. Fermentation properties of tested yeast strains in conditions of primary grape must fermentation correlated with properties of reference strains. Yield coefficient were in the range  $Y_{P/S} = 0,47-0,48$ . Investigations in secondary fermentation conditions reveal the same satisfying properties of the strains tested ( $Y_{P/S} = 0,41-0,44$ ). The strain *S. cerevisiae* FV 3 may be considered from this viewpoint as the most efficient.

**Malík, F. – Sitorová, S. – Vollek, V. – Linczényiová, K.: Technologische Eigenschaften der Äthanol-toleranten Weinhefen *Saccharomyces cerevisiae* der Reihe FV. Kvas. prům. **42**, 1996, Nr. 5, S. 168–170.**

In vorliegender Arbeit werden technologische Eigenschaften natürlicher Isolate äthanoltoleranter Weinhefen der Art *Saccharomyces cerevisiae* der Reihe FV mit dem Ziel einer möglichen Verwendung im Prozess der Schaumweinherstellung, überprüft. Die Gärungseigenschaften der untersuchten Hefestämme in Bedingungen primärer Mostgärung korrelierten mit den Eigenschaften der Weinheferferenzstämme. Die Ausbeutekoeffiziente lagen im Bereich  $Y_{P/S} = 0,47-0,48$ . Die Untersuchungen in Bedingungen der sekundären Gärung dokumentieren in gleicher Weise zufriedenstellende Eigenschaften der untersuchten Stämme ( $Y_{P/S} = 0,41-0,44$ ), wobei der *S. cerevisiae* Stamm FV 3 aus dieser Sicht als leistungsfähigster anzusprechen ist.

**Малик, ф. – Ситорова, С. – Воллек, В. – Линцзениова, К.: Технологические свойства этанол-толерантных винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ряда фВ. Квас. прум., **42**, 1996, № 5, стр. 168–170.**

Работа проверяет технологические свойства природных изолятов этанолтолерантных винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ряда фВ с целью их использования в процессе производства шипящего вина. Ферментационные свойства исследуемых штаммов в условиях первичного брожения сока находились в корреляции с свойствами референтных штаммов винных дрожжей. Коэффициенты выхода двигались в интервале  $Y_{P/S} = 0,47-0,48$ . Результаты в условиях вторичной ферментации также документируют хорошие свойства исследуемых штаммов ( $Y_{P/S} = 0,41-0,44$ ), причем штамм *Sacch. cerevisiae* FV 3 с этой точки зрения оказался наиболее эффективным.