

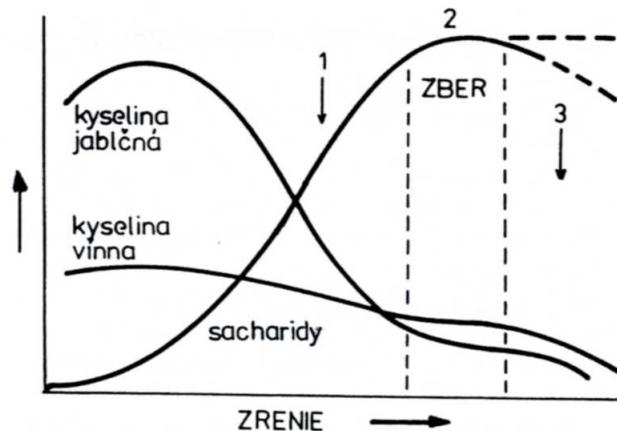
MOŽNOSŤ AKTIVÁCIE RIADENÉHO JABLČNO-MLIEČNEHO KVASENIA PREPARÁTOM BUNKOVÝCH STIEN KVASINIEK VO VÍNE

Doc. ing. Erich MINÁRIK, DrSc., ing. Olga JUNGOVÁ, CSc., KVÚVV Bratislava

Klíčové slová: víno, jablčno-mliečné kvasenie, aktivácia, kvasinky, bunkové steny

Bakteriálna degradácia kyseliny L-jablčnej patrí popri alkoholovej fermentácii k najdôležitejším biologickým a biochemickým procesom v kvasiacich muštoch a mladých vínoch. Doteraz sa u nás táto fermentácia praktizuje výlučne spontánne konglomerátom mliečnych bakterií rodu *Leuconostoc*, *Lactobacillus* a *Pediococcus* prítomných už na zrejúcich a zrelých bobuliach hrozna.

V severnejších a okrajových vinohradníckych oblastiach Slovenska, Čiech i Moravy sa hrozno Oberá v čase, keď často ešte obsahuje pomerne veľa kyselin, najmä kyselinu L-jablčnú. Výrazné maximum dosahuje koncentrácia kyseliny jablčnej pred zamäkavaním bobúľ. Po ňom dochádza k jej poklesu. Ideálne by bolo zberať hrozno v čase, keď je pomer medzi sacharidmi a kyselinami najprzniejší (obr. 1, podľa F. Radlera).



Obr. 1 Režim kyseliny vínnej, jablčnej a sacharidov počas vyzrievania bobúľ — schéma podľa Radlera

Ak odhliadneme od bežných chemických a tradičných biologických spôsobov úpravy hladiny kyselín v muštoch a vínoch (sceľovanie, odkyselenie CaCO_3 , spontánne jablčno-mliečne kvasenie, samovoľné vyzrážanie solí kyseliny vínnej) do predia záujmu sa stále viac dostávajú metódy regulovanej jablčno-mliečnej fermentácie pomocou čistých selektovaných kultúr mliečnych bakterií, najmä heterofermentatívnych lyofilizovaných preparátov *Leuconostoc oenos*.

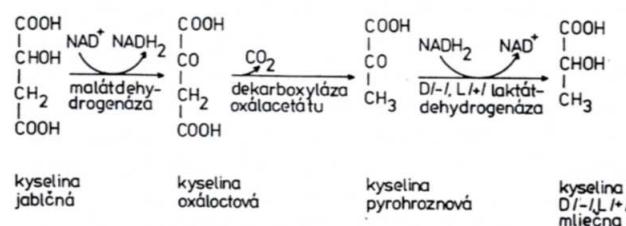
Na obr. 2 vidieť možné metabolické dráhy degradácie kyseliny L-jablčnej a vznik kyseliny mliečnej vo víne.

Doterajšie skúsenosti so štartovacími mliečny-

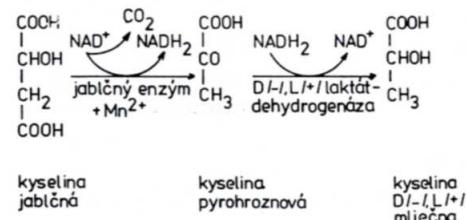
mi baktériami u nás neprekročili experimentálny charakter [1, 2].

Medzi preparáty lyofilizovaných kultúr sa občas vyskytujú menej výkonné alebo neaktívne

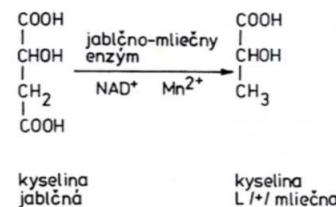
DRÁHA 1



DRÁHA 2



DRÁHA 3



Obr. 2 Tri možné metabolické dráhy odbúrania kyseliny L-jablčnej

kmene. Dôležité je najmä obnovenie funkčných činností (revitalizácia) danej kultúry, pH prostredia, koncentrácia inokula, obsah alkoholu, SO_2 v muštu alebo víne.

Pozitívny dopad regulovanej degradácie kyseliny L-jablčnej a jej úspešný priebeh závisí aj od dostatku rastových látok a vitamínov skupiny B. To možno dosiahnuť inokuláciou mladého práve dokvaseného vína, ktoré počas degradácie kyseliny jablčnej zostáva na kvasniciach. Nízka hladina voľného oxidu siričitého ($15\text{--}20 \text{ mg.l}^{-1}$), teplota $> 15^\circ\text{C}$, pH nad 3,0—3,1, obsah alkoholu do 12 % obj.) sú dôležité nielen pre regulované, ale aj pre spontánne odbúranie kyselín.

Cieľom práce bolo zistiť, do akej miery možno pozitívne ovplyvňovať degradáciu kyseliny L-jablčnej lyofilizovanou kultúrou *Leuconostoc oenos*, ak sa použije preparát bunkových stien kvasiniek (BSK) za kontrolovaných podmienok fermentácie.

MATERIÁL A METÓDY

Hroznový mušť odrody Rizling vlašský s 200 g.l^{-1} redukujúcich sacharidov, $8,0 \text{ g.l}^{-1}$ titrovateľných kyselín, $3,5 \text{ g.l}^{-1}$ kyseliny L-jablčnej a $6,6 \text{ g.l}^{-1}$ kyseliny vínej sa homogenizoval a v 35 l balónoch zakvasil 3-dňovou kultúrou *Saccharomyces cerevisiae* (kmeň Bratislava 1). Kvasenie prebiehalo pri $15\text{--}16^\circ\text{C}$.

Lyofilizovanú kultúru *Lc. oenos* dodala dánska firma Christian Hansen's Copenhagen pod označením Viniflora oenos (*Lc. oenos*). Inokulovalo sa víno tesne po dokvasení 8 mg.l^{-1} nerevitalizovanej kultúry. Kontrolné víno degradovalo kyseliny spontánne. Jedna časť pokusných vín sa inokulovala *Lc. oenos* až po prvom stočení z kalov.

Preparát BSK BIOS 24 bol pripravený na Chemickej technologickej fakulte STU v Bratislave. Dôzval sa vždy spolu s kultúrou *Lc. oenos* v množstve 300 mg.l^{-1} vína.

Organické kyseliny sa stanovili izotachoforeticky, ostatné zložky vína metódami odporúčanými O.I.V.

Pokusné varianty

1. Kontrola — spontánna degradácia kyselín
2. Víno inokulované preparátom *Lc. oenos* pred stočením z kalov
3. Víno inokulované preparátom *Lc. oenos* pred stočením z kalov s pridaním BSK
4. Víno inokulované preparátom *Lc. oenos* po stočení z kalov
5. Víno inokulované preparátom *Lc. oenos* po stočení z kalov s pridaním BSK

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sa uvádzajú obsah niektorých organických kyselín vína počas a po ukončení reguloowanej jablčno-mliečnej fermentácie.

Výnimcočne vysoká aktivita odbúrania kyseliny L-jablčnej kultúrou *Lc. oenos* vo vínoch variantu 2 a 3 je pozoruhodná. Hladina kyseliny jablčnej klešla v neodkalenom víne (varianta 2) z pôvodných $2,70 \text{ g.l}^{-1}$ pred inokuláciou *Lc. oenos* po 3 týždňoch na $1,43 \text{ g.l}^{-1}$ (o $47,1\%$), po 5 týždňoch na $0,33 \text{ g.l}^{-1}$ (o $87,8\%$). Vo víne s aktivátorom BSK (varianta 3) poklesla hladina kyseliny jablčnej z $2,74 \text{ g.l}^{-1}$ po 3 týždňoch na $1,08 \text{ g.l}^{-1}$ (o $60,6\%$), po 5 týždňoch dokonca na $0,21 \text{ g.l}^{-1}$ (o $92,4\%$). Z toho je zrejmé, že aktivátor BSK mierne pozitívne ovplyvnil degradáciu kyseliny L-jablčnej, ktorá bola po 5 týždňoch takmer o 5% vyššia ako vo víne bez aktivátora.

Tabuľka 1. Obsah organických kyselin počas riadeného bakteriálneho obúrania kyselin

Va- ri- ant- *)	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
	kyselina jablčná			kyselina vínná			kyselina mliečna			kyselina octová		
1	2,68	2,96	2,80	4,58	4,08	3,46	0,45	0,45	0,61	0,15	0,24	0,20
2	2,70	1,43	0,33	4,48	3,76	3,43	0,40	1,06	1,85	0,14	0,16	0,17
3	2,74	1,08	0,21	4,33	3,65	3,35	0,42	1,40	2,07	0,21	0,21	0,18
4	—	2,72	2,58	—	3,62	3,51	—	0,43	0,73	—	0,17	0,20
5	—	2,71	2,61	—	3,54	3,52	—	0,45	0,54	—	0,17	0,16

*) Popis variant viď. kp. Materiál a metódy.

A — obsah kyselín 15. 10.

B — obsah kyselín 5. 11.

C — obsah kyselín 16. 11.

Podstatne slabšia bola aktivita *Lc. oenos*, ak sa kultúra inokulovala do mladého vína po stočení z kvasničných kalov; hodnoty obsahu kyseliny jablčnej po 5 týždňoch (varianty 4 a 5) dosahovali $2,58$, resp. $2,61 \text{ g.l}^{-1}$. To sú hodnoty blízke hodnotám pri spontánnej degradácii kyseliny jablčnej (varianta 1) — $2,80 \text{ g.l}^{-1}$. Intenzitu degradácie v tomto prípade neovplyvnil ani prípadok aktivátora BSK.

Nárast koncentrácie kyseliny mliečnej vo víne bol úmerný degradácií kyseliny L-jablčnej (varianty 2 a 3). Aktivačný účinok BSK sa prejavoval nielen na odbúranie kyseliny jablčnej, ale aj na produkte tejto degradácie — kyseline L-mliečnej.

Obsah kyseliny vínej a octovej bol vo všetkých variantoch pomerne vyrovnaný.

Z uvedených výsledkov je zrejmé, že pri aplikácii *Lc. oenos* je bezpodmienečne nutné, aby sa inokulácia uskutočnila tesne po dokvasení mladého vína, kým je ešte na kvasničiach, t. j. za dostatočného prístupu rastových látok a vitamínov. Počas degradácie kyselín musí víno zostať na kvasničných kaloch. Až po ukončení odbúrania kyseliny jablčnej sa môže víno stočiť z kalov.

Výhodou kultúry Viniflora oenos je skutočnosť, že lyofilizovaná kultúra sa nemusí revitalizovať, t. j. kultúra *Lc. oenos* sa inokuluje priamo do vína. Degradácia kyseliny jablčnej je po $3\text{--}5$ týždňoch ukončená. Výhodou je tiež, že sa senzoricky nezistili žiadne rozdiely medzi vínami so spontánnou a riadenou degradáciou kyselín.

LITERATÚRA

- [1] JUNGOVÁ, O., MINÁRIK, E.: Vinohrad, **32**, 1994, s. 42
- [2] MINÁRIK, E., JUNGOVÁ, O.: Mitteilungen Klosterneuburg, 1995, v tlači

Lektoroval doc. ing. F. Malik, CSc.
Do redakcie došlo 20. 5. 1995

Minárik, E.—Jungová, O.: Možnosť aktivácie riadeného jablčno-mliečneho kvasenia preparátom

bunkových stien kvasiniek vo víne. Kvas. prům., 41, 1995, č. 8, s. 239—241.

Regulovaná bakteriálna degradácia kyseliny jablknej sa môže úspešne aplikovať nerevitalizovanou lyofilizovanou kultúrou *Leuconostoc oenos* za predpokladu, že sa kultúra inokuluje bezprostredne po alkoholovej fermentácii do mladého vína na kvasniciach, na ktorých víno zotrva, kým nie je odbúranie kyselín ukončené. Odporúčané inokulum je $8 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ *Lc. oenos*. Aktivitu *Lc. oenos* možno mierne zvýšiť prídavkom aktivátora bunkových stien kvasiniek. Aplikáciu kultúry *Lc. oenos* možno odporúčať pri vyšej východiskovej koncentrácií kyselín, a to najmä vtedy, ak chemické alebo klasické opatrenia stimulácie degradácie kyselín neprihádzajú do úvahy.

Minárik, E.—Jungová, O.: Possibility of Activating Regulated Malolactic Fermentation by Yeast Cell-walls Preparations. Kvas. prům., 41, 1995, No. 8, pp. 239—241.

The regulated bacterial L-malic acid decomposition in wine may be successfully achieved by the not revitalized lyophilized *Leuconostoc oenos* culture supposed that the culture will be inoculated immediately after alcoholic fermentation while the wine is on the yeast deposit. In the course of acid decomposition the wine should remain on the yeast. Racking should take place afterwards. The activity of *Lc. oenos* may be slightly stimulated by yeast cell-walls activator. The use of *Leuconostoc oenos* pure culture may be applied at higher titratable acid concentration, mainly if chemical deacidification or classic measures stimulating acid decomposition are not applicable.

Minárik, E.—Jungová, O.: Zur Möglichkeit der Aktivierung der regulierten Äpfelsäure-Milchsäure-Gärung durch Hefezellwand-Präparate. Kvas. prům., 41, 1995, Nr. 8, S. 239—241.

Der regulierte bakterielle L-Äpfelsäure-Abbau in Wein wird erfolgreich mit der nicht revitalisierten lyophilisierten Kultur *Leuconostoc oenos* unter der Voraussetzung durchgeführt, dass die Kultur unmittelbar nach der Beendigung der alkoholischen Gärung während der Wein noch auf der Hefe liegt, beimpft wird. Der Wein muss während des Säureabbaus auf der Hefe bleiben. Erst dann soll der Abstich erfolgen. Die Aktivität von *Lc. oenos* kann durch den Hefezellwand-Aktivator leicht gefördert werden. Die Verwendung von *Leuconostoc oenos*-Reinkultur kann bei höherer Ausgangskonzentration titrierbarer Säuren empfohlen werden, namentlich dann, wenn die chemische Entsäuerung oder klassische Massnahmen zur Stimulierung des Säureabbaus nicht in Frage kommen.

Минарик, Э.—Юнгова, О.: Возможность активации управляемого яблочно-молочного брожения препаратом клеточных стенок дрожжей в вине. Квас. прум. 41, 1995, № 8, стр. 239—241.

На регулируемую бактериальную деградацию л-яблочной кислоты можно оказать успешное действие неревитализированной лиофилизованной культурой *Leuconostoc oenos* (Л.о.) при предположении, что инокуляция культуры проходит непосредственно после спиртовой ферментации в молодом вине на дрожжах, на которых вино остаивается, пока отщепление кислот не окончено. Рекомендованная доза составляет $8 \text{ мг} \cdot \text{l}^{-1}$ Л.о. Активность Л.о. можно несколько повысить добавкой активатора клеточных стенок дрожжей. Приложение культуры Л.о. можно рекомендовать при более высокой исходной концентрации кислот на входе, и то особенно тогда, когда классические или химические мероприятия стимулирования деградации кислот здесь не находят места.