

# Ďalšie poznatky so stabilizáciou sladkých vín dietylesterom kyseliny pyrouhličitej

ERICH MINÁRIK, Výskumný ústav vinohradnícky a vinársky, Bratislava

663.256.1

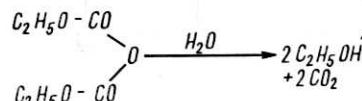
V posledných rokoch sa v mnohých európskych a zámorských krajinách vyskúšala a v niektorých štátach aj povolila nová látka vhodná na stabilizáciu alkoholických i bezalkoholických nápojov voči biologickým zákalom — dietylester kyseliny pyrouhličitej (DKP), ktorá sa na trh dostala pod označením Baycovin. Tento prostriedok je pomerne málo toxickej, ako uvádzajú Hecht [5], Bornmann a Loeser [2] a Krumphanzl a Klejniová [9]. Vykujuje vysokú účinnosť voči bežným kontaminantom hroznových vín, predovšetkým kvasinkám a kvasinkovým mikroorganizmom. Pôsobí však mikrobičíne aj vôči baktériam a plesniám. Výsledky dosiahnuté so stabilizáciou sladkých vín v ČSSR boli uverejnené v tomto časopise skôr (Minárik, Laho [10], Minárik [11]).

Na rozdiel od iných známych konzervačných látok reaguje DKP rýchle s vodou, pričom sa hydrolyticky rozkladá na etanol a kysličník uhličitý. Niekoľko hodín po ošetrení vína sa prakticky prevažná časť DKP rozloží na vínu vlastné zložky. Preto tiež niektorí autori používajú termín „studená sterilizácia“ nápojov (Hawley [4]) a DKP označujú za „technickú pomocnú látku“ pri ošetrovaní vína (Hennig [6]). Rýchly hydrolytický rozklad DKP vo víne súčasne vyžaduje ošetrenie tesne pred fľaskovaním a uzavieraním fliaš. Stabilizované víno treba vo fliašach chrániť pred rekontamináciou, nakoľko účinok esteru je jednorázový a dodatočne kontaminovaný nápoj podlieha skaze. Z tohto hľadiska je veľmi dôležitá sterilizácia korkových zátok 1,5 až 2%  $H_2SO_3$ , dôsledná čistota používaných fliaš atď.

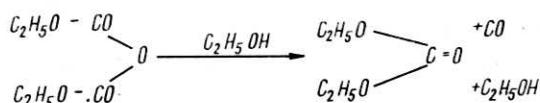
Rýchlosť hydrolyzy DKP sa mení s teplotou, ako vidieť na obr. 1. So stúpajúcou teplotou sa rýchlosť hydrolytického rozkladu esteru zvyšuje. Pri teplote miestnosti ( $20^\circ C$ ) je hydrolyza prakticky skončená za 7 hodín, pri teplote pivnice ( $10^\circ C$ ) asi za 20 až 21 hodín atď. Treba ovšem zdôrazniť, že hydrolytický rozklad DKP nie je za každých okolností úplný. V alkoholických nápojoch, napr. aj vo víne a za prítomnosti amínokysélin, proteínov, amínov, karboxylových kyselín a fenolických látok (napr.

trieslovín), môžu prebiehať niektoré reakcie, pri ktorých vznikajú vedľajšie produkty, napr. karbetoxyamínokyseliny, etylkarbonáty, substituované karbamidy atď. Ich množstvo však zpravidla ne-prevyšuje 5 až 8 mg/l.

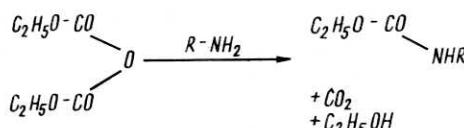
## I. hydrolyza



## II. alkoholýza



## III. karbetoxylyácia

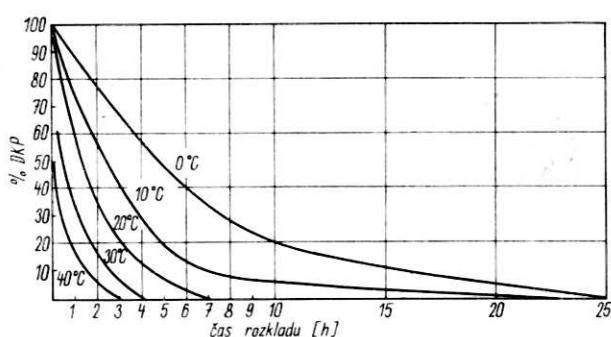


Obr. 2

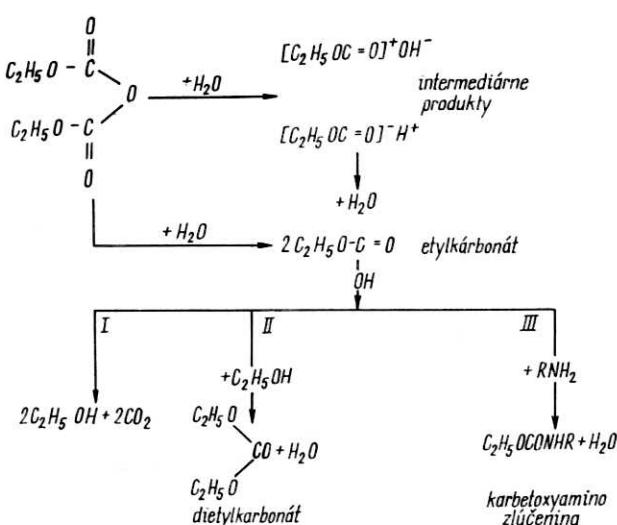
Na obr. 2 vidieť schematicky mechanizmus 3 typov reakcií DKP so zložkami vína. Rýchlosť reakcie I a II sa mení so stúpajúcim pH len málo, kým rýchlosť reakcie III (karbetoxylyácia) sa so zvýšením pH stupňuje. Hydrolytický rozklad DKP je prevažujúcou reakciou vo víne. Alkoholýza závisí od množstva etylalkoholu a koncentrácie DKP vo víne. Pokusy so značkovaným DKP-C<sup>14</sup> dokázali, že v zmysle karbetoxylyáčnych reakcií reaguje len niekoľko percent esteru.

Smrtiaci účinok DKP na mikrobiálnej bunku sa pôvodne vysvetľoval reakciou DKP s enzymami. Ako sa však dokázalo (Mönchová [13]), k inaktivácii enzymov by boli potrebné väčšie množstvá DKP ako pre usmrtenie mikroorganizmov. Tento rozpor možno vysvetliť mechanizmom účinku DKP, podľa ktorého v prvej fáze vzniká monoethylkarbonát, ktorý je nestály a rozloží sa na etanol a CO<sub>2</sub> alebo okamžite reaguje s prítomným etylalkoholom a amínskupinami amínokysélin a proteínov. Monoethylkarbonát sa zdá byť aktívnej formou DKP, ktorá sa vytvára počas hydrolyzy (obr. 3), podľa Genthia [3].

Karbetoxylyácia prebieha reakciou DKP alebo jeho aktívnej formy (monoethylkarbonátu) s amíno- alebo fenolickými skupinami počas hydrolyzy, ak je



Obr. 1



Obr. 3

intracelulárne pH vyššie ako pH prostredia. Tento predpoklad platí podľa Kotyka [8] určite pre *Saccharomyces cerevisiae*; dá sa predpokladať, že platí aj pre jeho varietu *ellipoideus*. To znamená, že malé množstvo DKP reaguje počas hydrolyzy s intracelulárnymi zložkami mikrobiálnej bunky a s bielkovinovými zlúčeninami enzýmov. Tak možno potom vysvetliť skutočnosť, že veľmi malé dávky DKP môžu usmrtiť kvasinkovú bunku.

Citlivosť rôznych vo víne sa vyskytujúcich sporogénnych a asporogénnych kvasiniek voči DKP vidieť v tabuľke 1. Výsledky sa porovnávajú s účinnosťou kyseliny sorbovej. Pri masívnej kontaminácii je inhibičná koncentrácia rastu značne vyššia ako pri slabšej kontaminácii. Z tohto vyplýva nutnosť zniženia počtu kvasničných buniek vo víne, napr. filtráciou, separáciou, na minimum. Asporogénne kvasinky sú voči DKP vcelku citlivejšie ako sporogénne. Osobitnú rezistenciu vyzkazujú vo vínoch zriedkavo sa vyskytujúce *Saccharomyces acidifaciens*. Všeobecne sú kvasinky muštu rezistentnejšie ako kvasinky vyskytujúce sa vo víne. Napr. inhibičná koncentrácia *Saccharomyces acidifaciens* v mušte je 500 mg/l, vo víne iba 50 mg/l. Uvedený fakt možno pozorovať aj u iných druhov sporogénnych kvasiniek, napr. *Saccharomyces oviformis*, *carlsbergensis*, *cerevisiae* var. *ellipoideus* a pod. Značnejšie rozdiely sú aj u rôznych starých kultúr: všeobecne sú odolnejšie staršie bunky.

V podmienkach čsl. vinárstva sa všeobecne osvedčili dávky 50 až 150 mg/l DKP. Pri týchto dávkach sa predpokladá pochopiteľne ostrá filtracia vína pred fľaškovaním, osobitne starostlivé ošetrenie vínnych fliaš a sterilizácia korkových zátok. Počet kvasničných buniek fľaškovaného vína nemá prestúpiť 500/ml.

Nutná aplikáčná koncentrácia DKP pre vína sa riadi dobovou, ktorá uplynne medzi dôzovaním prostriedku do vína a uzavieraním vínnych fliaš. Z hľadiska rýchleho hydrolytického rozkladu DKP je to veľmi dôležité, pretože praktické skúšky do-

Tabuľka 1

Druh kvasiniek	Počet buniek	Kyselina sorbová	DKP
	Inhibičná koncentrácia rastu mg/l		
<i>Sacch. cerevisiae</i> v. <i>ellips.</i>	500	90	75
	5 000	150	90
	50 000	200	300
<i>Sacch. oviformis</i>	503	75	100
	5 000	150	200
	50 000	240	380
<i>Sacch. carlsbergensis</i>	500	50	50
	5 000	100	150
	50 000	200	270
<i>C. mycoderma</i>	500	30	40
	50 000	100	80
<i>C. zeylanoides</i>	500	50	75
	50 000	150	100
<i>C. krusei</i>	500	30	30
	50 000	70	60

kázali, že 2 hodiny po prídatku esteru do vína sa pri 12 až 13 °C rozloží skoro polovica, pri 20 °C až 60 % DKP. Veľmi dôležitá je hladina voľnej kyseliny siričitej vína. SO<sub>2</sub> vyzkazuje vyslovene synergický stabilizačný účinok s DKP. V našich podmienkach sa osvedčilo okolo 20 mg/l voľnej kyseliny siričitej (Minárik, Nagyová [12]); niektorí autori napr. Kielhöfer [7] odporúčajú 20 až 30 mg/l, Blouin a Barthe [1] 30 až 40 mg/l, van Zyl [14] dokonca 100 mg/l. Výška dôzovateľného množstva DKP sa riadi hladinou alkoholu vína: čím je táto vyššia, tým relativne nižšie koncentrácie esteru sa vyžadujú. Obdobné relácie platia pre celkový počet mikroorganizmov: so znižujúcim sa počtom kvasničných buniek sa znižujú aj potrebné dávky DKP.

Vína stabilizované DKP vyzkazujú dôsledkom už uvedenej reakcie s etanolom vína určité malé množstvo dietylkarbonátu, ktorý pri vyšej koncentrácií DKP spôsobuje známu „lekárnicku“ príchuť stabilizovaných vín. Na rozdiel od DKP má dietylkarbonát trvalú príchuť a vôňu. Množstvo vytváraného dietylkarbonátu je priamo úmerné množstvu dôzovaného DKP a obsahu alkoholu vína. Na každých 100 mg/l DKP pripadá 0,5 mg/l dietylkarbonátu, tj. 0,5 % pre každé obj. % alkoholu. Napr. pre víno s 10 obj. % alkoholu stabilizovaného 100 mg/l DKP pripadá asi 5 mg/l dietylkarbonátu. Hraničná koncentrácia chuťového postrehu dietylkarbonátu je asi 9 až 10 mg/l, čo odpovedá asi 150 až 200 mg/l DKP pri priemernom obsahu alkoholu vína.

Na základe doterajších výsledkov pokusnej stabilizácie vín so zvyškem cukru (3 až 30 g/l red. cukrov) sa pri strednom stupni sírenia (15 až 20 mg/l voľného SO<sub>2</sub>) vyžadujú tieto dávky esteru: Pre vína s 10,5 až 11 obj. % alkoholu 150 mg/l, pre vína s 11 až 12 obj. % alkoholu 100 až 150 mg/l, pre vína s 12 až 13 obj. % alkoholu 100 mg/l, pre vína s 13 až 14 obj. % alkoholu 75 až 100 mg/l,

pre vína s viac ako 14 obj. % alkoholu 50 až 75 mg/l DKP.

Pre tokajské výbery a samorodné sladké vína zpravidla vystačíme so 100 mg/l DKP. Pri nižšom stupni sírenia (10 až 15 mg/l voľného SO<sub>2</sub>) sú potrebné horné hranice uvedených koncentrácií.

Dôležitou otázkou je samotné dávkovanie DKP. Nakoľko jeho rozpustnosť vo vode (víne) je minimálna, osvedčuje sa pre veľkovýrobné podmienky predovšetkým dávkovanie vysokotlakovým membránovým dôzovacím čerpadlom typu Orlita STA umožňujúcim kontinuálne dávkovanie do prúdu stáčaného vína. V malovýrobných podmienkach možno ester dôzovať rýchlym zamiešaním do vína rýchlobežným miešadlom. Iný spôsob sa zakladá na rozprášovaní DKP vo víne pomocou rozprášovača pod tlakom inertného plynu (N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>). V laboratórnom merítku možno používať aj dávkovanie esteru vo forme 10 až 20 % alkoholického roztoku.

I keď DKP je zatiaľ k stabilizácii vína povolený len v niekoľkých krajinách (USA, Brazília, Grécko, Švédsko, NSR, Izrael), je pravdepodobné, že po ďalšom intenzívnom výskume esteru po stránke hygienickej, bude tento stabilizačný prostriedok postupom času pripravený aj v ďalších štátach, ako tomu nasvedčuje veľký záujem producentov, predovšetkým na úseku bezalkoholických nápojov.

## Súhrn

Uvádzajú sa ďalšie poznatky o vlastnostiach a chovaní sa dietylesteru kyseliny pyrouhličitej vo

### ОПЫТ ПО СТАБИЛИЗАЦИИ СЛАДКОГО ВИНА СЛОЖНЫМ ЭТИЛОВЫМ ЭФИРОМ ПИРОУГЛЕКИСЛОТЫ

В статье приводятся новые данные о свойствах сложного этилового эфира пироуглекислоты и о его введении в виноградном, сладком вине. Отмечается необходимость соблюдения определенных мер предосторожности при обработке вина с повышенным содержанием сахара. Рассматриваются результаты полученные в Чехословакии и заграницей при применении описываемого метода стабилизации сладкого вина и намечаются его дальнейшие перспективы.

### WEITERE ERFAHRUNGEN MIT DER SÜSSWEINSTABILISIERUNG MITTELS DIÄTHYLESTER DER PYROKOHLENSÄURE

Es werden neue Erkenntnisse über die Eigenschaften und das Verhalten des Diäthylesters der Pyrokohleinsäure in Weinen angeführt. Es wird auch auf die Notwendigkeit der Einhaltung bestimmter Massnahmen bei der Behandlung der Weine mit Restzuckergehalt hingewiesen. Einige neue hierige und ausländische Erfahrungen werden erörtert und die Perspektive der Applikation des erwähnten Stabilisierungsmittels angedeutet.

### STABILIZATION OF SWEET WINE WITH DIETHYL ESTER OF PYRO- CARBONIC ACID

The article deals with the results of recent research works on the properties of diethyl ester of pyrocarbonic acid and its behaviour in wine. Some special measures must be taken when treating wine with higher sugar content. Experience of Czechoslovak industry employing the described method for stabilizing wine is compared with that obtained abroad and prospects of further development are briefly evaluated.

víne. Poukazuje sa na nutnosť dodržiavania určitých nevyhnutných opatrení pri ošetrovaní vína so zvyškom cukru. Prinášajú sa niektoré novšie domáce a zahraničné skúsenosti a perspektívy aplikácie tohto prostriedku pri stabilizácii sladkých vín.

## Literatúra

- [1] Blouin, J.-Barthe, J. C.: Étude du pyrocarbonate d'éthyle. Essais d'utilisation pratique. = „Vignes et Vins“, No. 119, 1963: 13.
- [2] Bornmann, G. - Loeser, A.: Toxikologische Studie über den Pyrokohleinsäurediäthylester. = „Archiv für Toxikologie“, 19, 1961: 69.
- [3] Genth, H.: On the Action of Diethylpyrocarbonate on Micro-organisms. 4th International Symposium on Food Microbiology, SIK, Göteborg 1964, p. 77-85.
- [4] Hawley, H. B.: The Cold Sterilisation of Beverages. International Food Industries Congress 1964, Session 4, Paper 4.
- [5] Hecht, G.: Zur Toxikologie des Pyrokohleinsäurediäthylesters. — „Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung“, 114, 1961: 292.
- [6] Hennig, K.: Der Pyrokohleinsäurediäthylester, ein neues, rückstandloses, gärhemmendes Mittel. = „Weinberg und Keller“, 7, 1960: 351.
- [7] Kielhöfer, E.: Der Pyrokohleinsäurediäthylester. = „Weinberg und Keller“, 9, 1962: 235.
- [8] Kotyk, A.: Intracellular pH of baker's yeast. = „Folia Microbiologica“, 8, 1963: 27.
- [9] Krumphanzl, V. - Klejnárová, J.: Stanovení některých vlastností DKE, prostředu na zajištění biologické stability nápojů. = „Průmysl potravin“, 15, 1964: 197.
- [10] Minárik, E. - Laho, L.: Stabilizácia sladkastých vín dietyl-esterom kyseliny pyrouhličitej. = „Kvasný průmysl“, 8, 1962: 83.
- [11] Minárik, E.: Stabilizácia tokajských výberov voči biologickým zákalom. = „Kvasný průmysl“, 10, 1964: 131.
- [12] Minárik, E. - Nagyová, M.: Poznatky o stabilizácii sladkých vín voči kvasinkovým zákalom. Pokroky vo vinohradníckom a vinárskom výskume, SAV, Bratislava 1966.
- [13] Mönch, G.: Pyrokohleinsäure-Diäthylester, ein neues Konserverungsmittel für Bier? — „Brauwissenschaft“, 14, 1961: 257.
- [14] Zyl, von J. A.: The Microbiology of South African Winemaking. Part II. The Preservation of Musts and Wines With Pyrocarboxylic Acid Diethylester. = „South African Journal of Agricultural Science“, 5, 1962: 293.

*Došlo do redakce 5. 4. 1966.*

