

EWA ROSTKOWSKA-DEMNER, WIESŁAW WZOREK

PRÓBY ZASTOSOWANIA SZKŁA PIANKOWEGO JAKO NOŚNIKA DROŻDŻY W OKSYDACJI BIOLOGICZNEJ WIN OWOCOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było porównanie efektów szeryzacji win owocowych przeprowadzonej przy użyciu drożdży immobilizowanych na białym szkłe piankowym z metodą napowietrzania i metodą rozprysku wina nad powierzchnią cieczy. Szeryzację prowadzono w skali laboratoryjnej, stosując przemysłowo otrzymane wina jabłkowe i truskawkowe. Stosowano drożdże *Saccharomyces cerevisiae* rasy Bratysława. Badano podstawowy skład win przed i po szeryzacji; wykonano analizy zawartości składników wpływających na cechy smakowo-zapachowe i zawartości wybranych metali oraz przeprowadzono ocenę organoleptyczną. Wszystkie zastosowane metody pozwoliły na uzyskanie cech typowych dla szeryzowanych win owocowych. Najwyższej jakości produkty otrzymano stosując metodę z drożdżami immobilizowanymi na szkłe piankowym. Białe szkło piankowe dzięki porowatej, stałej strukturze zatrzymywało na powierzchni duże ilości komórek drożdży, nie przekazywało winom obcych posmaków, łatwo można było też nośnik regenerować i myć. Wykazano, że badane szkło piankowe może być wykorzystane do immobilizowania drożdży w procesie szeryzacji win.

Wstęp

W Polsce produkuje się głównie owocowe wina deserowe i inne napoje winiarskie z jabłek lub kupaże wina jabłkowego z innymi winami owocowymi. W większości przypadków są to napoje niezbyt wysokiej jakości.

Jedną z metod pozwalających uzyskać specyficzne cechy organoleptyczne produktu, jest proces szeryzacji, wykorzystujący oksydatywną fazę życiową drożdży. Brak cukrów w środowisku, a także dostęp tlenu powodują, że drożdże intensywnie odżywiają się alkoholem, kwasami organicznymi i glicerolem, przyczyniając się do powstania cennych związków, które tworzą bukiet sherry - aldehydów, acetalii, estrów i innych. Mając na uwadze znaczne różnice w składzie i cechach win gronowych i win owocowych, przeprowadzono badania z tego zakresu dla krajowych win owocowych. Głównym celem doświadczeń było określenie przydatności białego szkła piankowego,

jako nośnika drożdży szeryzujących i porównanie tej metody z innymi sposobami szeryzacji.

Materiał i metody

Szeryzację przemysłowo otrzymanych win (jabłkowe, truskawkowe 1 i truskawkowe 2) prowadzono w warunkach laboratoryjnych, w temperaturze 16–18°C. Do winomateriałów dodawano SO₂ w ilości 100 mg/dm³ oraz pożywkę azotową – wodny roztwór amoniaku (120 mg NH₃/dm³). Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* rasy Bratysława namnażano na moszczu jabłkowym (9° Blg, pH 3.5), uzyskanym przez rozcieńczenie koncentratu jabłkowego z dodatkiem wodorooortofosforanu (V) diamonu (0,5 g/dm³) i SO₂ (100 mg/dm³). Proces namnażania prowadzono w 3 etapach, a do podłoża w ostatnim pasażu dodawano 5% obj. etanolu, celem przyzwyczajenia drożdży do wyższych stężeń tego alkoholu. Namnożone drożdże odwirowywano przy 490 obr./min, w czasie 10 minut, a otrzymaną gęstwą szczepiono wina lub наносzono ją na nośnik (szkło piankowe) w ilości zapewniającej około 5·10⁶ komórek drożdży w 1 cm³ winomateriału (w przypadku nośnika, w przeliczeniu na objętość wina).

Proces szeryzacji prowadzono w ciągu 20–23 dni, stosując trzy różne metody: napowietrzania, rozprysku oraz z drożdżami immobilizowanymi na białym szkłe piankowym, zwaną dalej w skrócie metodą „na szkłe”. W metodzie napowietrzania stosowano system barboterowy i wprowadzano do wina czyste powietrze w ilości 2,8–3,0 dm³/h (płuczka z wodą i filtr mikrobiologiczny).

W metodzie rozprysku z dna słoja pompa pobierała wina z szybkością 1,2 dm³ wina/h i przekazywała nad powierzchnią w tym samym słoju w taki sposób, aby wina spływało po ściankach zbiornika cienką strugą.

W metodzie „na szkłe” kostki białego szkła piankowego (ok. 1 cm³) z naniesioną gęstwą drożdżową, umieszczano nad powierzchnią wina. Pompa pobierała wina z dna zbiornika (1,2 dm³/h) i przekazywała do tego samego naczynia w ten sposób, aby wina ściekało po powierzchni nośnika.

Podstawową analizę chemiczną win po szeryzacji przeprowadzono zgodnie z ogólnie przyjętą metodyką [11]. Zawartość aldehydów w przeliczeniu na aldehyd octowy określano metodą jodometryczną. Po oddestylowaniu aldehydów również metodą jodometryczną oznaczano acetale, a wynik przeliczano na acetal dietylowy. Estry lotne określano metodą destylacyjną, przy czym wynik podawano jako octan etylu. Diacetyl i acetoinę oznaczano metodą kolorymetryczną opartą na kondensacji diacetylu do ksylochinonu podczas ogrzewania z ługiem. Garbniki analizowano zmodyfikowaną metodą kolorymetryczną z FeCl₃. Zawartość metali oznaczano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA) po uprzednim zmineralizowaniu próbek wina [1]. Aktywność życiową komórek drożdżowych określano metodą barwienia błękitem mety-

lenowym i liczenia w komorze Thoma [3]. Na dwa tygodnie przed oceną, wina dosładzano sacharozą do tego samego poziomu we wszystkich próbkach danej serii (około 80 g/dm³ – wina jabłkowe, około 60 g/dm³ wina truskawkowe). Analizę sensoryczną przeprowadzono komisyjnie (5–6 osób) stosując skalę pięciopunktową o dziewięciu poziomach jakości. Oceniano: barwę, zapach i smak. Ocenę ogólną otrzymano przez pomnożenie średnich arytmetycznych ocen poszczególnych wyznaczników przez odpowiednie współczynniki ważkości, podzielenie ich przez sumę tych współczynników i zsumowanie otrzymanych wartości. Przyjęte współczynniki ważkości: barwa – 1, zapach – 2, smak – 6.

Wybrane wyniki (5–6 powtórzeń) poddano interpretacji statystycznej, przeprowadzając wieloczynnikową analizę wariancji. Przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. Testem t-Studenta obliczono wartość NIR (najmniejszej istotnej różnicy).

Omówienie i dyskusja wyników

Wybrane metody szeryzacji oraz wpływ poszczególnych czynników na efekty tego procesu zostały omówione we wcześniejszych publikacjach [12, 19, 20, 21]. Zawartość wybranych składników w winach wyjściowych i po szeryzacji przedstawiono w tabelach 1 i 2. Poddane oksydacji biologicznej wina: jabłkowe i dwa truskawkowe posiadały wystarczającą dla procesu szeryzacji ilość alkoholu: 14,5–14,8 % obj., były również dobrze odfermentowane - wina jabłkowe zawierało 0,3 g/dm³ cukrów ogółem, a wina truskawkowe 3,0 g/dm³. Procesowi szeryzacji powinno poddawać się wina całkowicie odfermentowane. Najistotniejszym wskaźnikiem jakości gotowego produktu jest wynik oceny sensorycznej (rys. 1). Najlepszą jakość (ocena 4,1 punkta) wykazywały wina szeryzowane metodą „na szkle”. Nieco gorszej jakości produkty otrzymano w metodzie rozprysku (ocena 3,9 punkta) i w metodzie napowietrzania (ocena 3,7 punkta). Jakość win uzyskanych poszczególnymi metodami różniła się istotnie statystycznie (rys. 1).

Badania nad wykorzystaniem w procesie fermentacji [2, 4, 6, 10, 15, 16, 18] i procesie szeryzacji [7, 8, 9, 14, 17] metod z drożdżami osadzonymi na nośnikach trwają od kilkunastu lat. Drożdże immobilizowane w tlenowym procesie szeryzacji intensywniej oddychają i rozmnażają się w porównaniu z drożdżami swobodnymi. Dzięki wysokiej koncentracji drożdży, podwyższa się ich biochemiczna aktywność, szybciej tworzą się aldehydy i inne związki nadające winu cechy sherry. W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień na temat wcześniejszego stosowania białego szkła piankowego do unieruchamiania mikroorganizmów w procesie szeryzacji. Jedynie badacze greccy wykorzystywali nośnik zbliżony strukturą do białego szkła piankowego – naturalny pumeks (kissiris) w cyklicznej produkcji etanolu paliwowego [6, 18] oraz w niskotemperaturowej fermentacji wina [2]. Zaletą białego szkła piankowego jest porowatość jego struktury. Wiązanie drożdży na zasadzie adsorpcji jest metodą prostą i

Tabela 1

Wpływ metod szeryzacji na zawartość wybranych składników w winach owocowych.
The influence of sherryisation methods on the content of chosen components in fruit – wines.

Składniki Components	Rodzaj wina i metody / Kind of wines and methods											
	Jabłkowe / Apple				Truskawkowe I / Strawberry I				Truskawkowe II / Strawberry II			
	Wino wyjśc. 14,8	Napowietrz. 13,7	Rozprysk 14,5	„Na szkle” 13,9	Wino wyjśc. 14,5	Napowietrz. 13,7	Rozprysk 13,6	„Na szkle” 13,5	Wino wyjśc. 14,5	Napowietrz. 13,6	Rozprysk 13,5	„Na szkle” 13,6
Alkohol, % obj.	32,2	29,7	29,3	27,3	36,0	30,8	33,7	36,6	36,0	34,2	32,1	32,1
Ekstrakt ogólny, g/dm ³	0,32	0,11	0,14	0,10	3,0	1,4	1,9	1,7	3,0	1,8	1,6	1,6
Cukry ogółem, g/dm ³	3,64	3,98	3,80	4,02	3,90	4,26	4,21	4,12	3,90	4,11	4,03	4,17
pH	–	53	100	66	–	56	46	60	–	55	48	42
% komórek nieakt. życiowo												
Metale, mg/dm ³												
Na	27,5	–	–	37,9	93,5	–	–	102,2	93,5	–	–	90,2
K	316	–	–	360	640	–	–	660	640	–	–	635
Mg	15,1	–	–	12,4	86	–	–	88	86,0	–	–	77,0
Ca	37,5	–	–	34,7	215,0	–	–	212,5	215,0	–	–	188,0
Mn	0,37	–	–	0,40	4,0	–	–	4,0	4,0	–	–	3,3
Fe	6,9	–	–	5,60	1,75	–	–	1,30	1,75	–	–	1,0
Cu	0,16	–	–	0,07	0,58	–	–	0,15	0,58	–	–	0,09
Zn	0,65	–	–	0,43	1,94	–	–	1,82	1,94	–	–	0,92

tanią, jednak połączenie to jest dość nietrwałe, co powoduje częściowe wymywanie komórek ze złoża. Na powierzchni szkła piankowego, dzięki porom i stałej, niezminiającej się strukturze, komórki drożdży prawdopodobnie łatwiej i trwalej zatrzymują się niż na innych nośnikach. Ponadto szkło piankowe zachowuje swoją strukturę w kolumnie bioreaktora i nie ulega sprasowaniu w wyniku ciężaru warstwy, w odróżnieniu od różnego rodzaju żeli używanych do pułapkowania komórek drożdży.

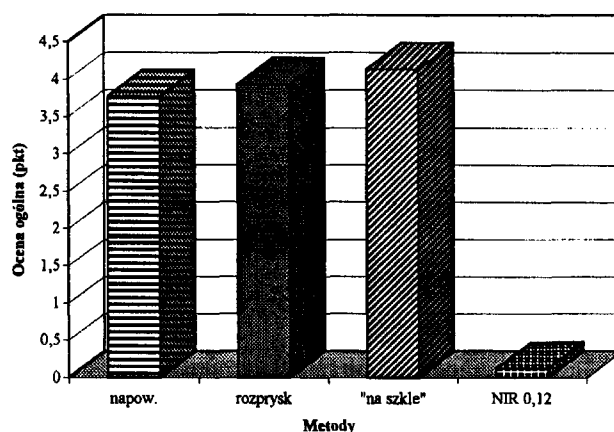
Tabela 2

Wpływ metod szeryzacji na zawartość wybranych składników win owocowych (średnie z trzech serii).
The influence of sherrysation methods on the content of chosen components in fruit – wines (average of 3 series).

Składniki Components	Metody / Methods				P (sig. level)
	Wartość wyjściowa	Metoda napowietrzania	Metoda rozprysku	Metoda „na szkło”	
Acetale, mg/dm ³	11	19	19	23	0.7870
Acetoina, mg/dm ³	23	41	47	35	0.3212
Diacetyl, mg/dm ³	87	109	87	65	0.1303
Estry lotne, mg/dm ³	60	140	105	119	0.4662
Garbniki, mg/dm ³	226	112	117	160	0.1720
Kwasowość lotna*, g/dm ³	0.52	0.31	0.24	0.33	0.0845
Kwasowość ogólna**, g/dm ³	4.61	3.80	3.39	3.39	0.4490

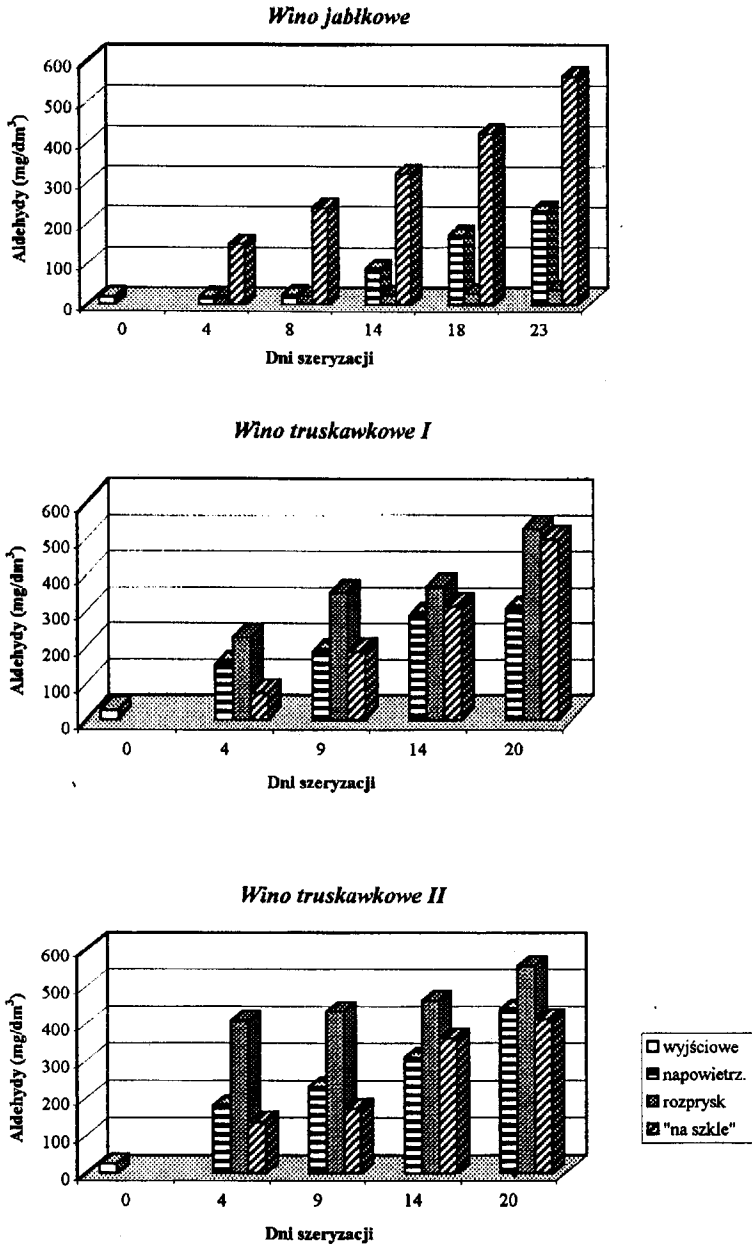
* w przeliczeniu na kwas octowy

** w przeliczeniu na kwas jabłkowy



Rys. 1. Wpływ metod szeryzacji na jakość win owocowych – ocena ogólna (średnia z 3 serii).

Fig. 1. The influence of sherrysation methods on the quality of fruit – wines general assessment (average of 3 series).



Rys. 2. Wpływ metod szeryzacji na zawartość aldehydów w winach owocowych.

Fig. 2. The influence of sherrying methods on the aldehydes content in fruit – wines.

Istniała możliwość przechodzenia ze szkła piankowego do wina niektórych metali, dlatego też oznaczano zawartość wybranych metali (metodą ASA) w winomateriałach oraz próbkach win szeryzowanych metodą „na szkło” (tab. 1). Przemysłowe wina owocowe charakteryzowały się niewielką zawartością żelaza ($1,75\text{--}6,90\text{ mg/dm}^3$), manganu i cynku ($0,37\text{--}4,00\text{ mg/dm}^3$) oraz śladową zawartością miedzi. Zastosowanie szkła piankowego nie spowodowało w winach większych różnic w zawartościach wymienionych powyżej pierwiastków, a także różnic w zawartościach magnezu i wapnia. Jedynie ilość sodu wzrosła w szeryzowanych winach o kilka do kilkunastu mg/dm^3 , a potasu o kilka do kilkudziesięciu mg/dm^3 (tab. 1). Pozwala to sądzić, że białe szkło piankowe jest w zasadzie obojętne względem wina i może być z powodzeniem stosowane w szeryzacji win owocowych. Dodatkową zaletą szkła piankowego jako nośnika drożdży jest to, że nie daje żadnych posmaków.

Pod koniec procesu szeryzacji badano w produktach aktywność życiową komórek drożdży. W większości win udział komórek nieaktywnych życiowo wyniósł od 42 do 85%. Jednak w winach jabłkowych obrabianych metodą rozprysku, wszystkie komórki drożdży były nieaktywne życiowo. Proces szeryzacji w winie tym został wyraźnie spowolniony – obserwowano niewielkie przyrosty zawartości aldehydów i innych związków.

Jedną z głównych grup związków chemicznych, które wpływają na bukiet sherry są aldehydy, tworzące się w czasie trwania procesu szeryzacji. Wina wyjściowe zawierały od 18 do 25 mg/dm^3 aldehydów. We wszystkich przypadkach stwierdzono stopniowy wzrost ich zawartości. Przebieg zmian zawartości aldehydów w trakcie 20–23-dniowej szeryzacji przedstawiono na rysunku 2.

Uważa się, że nagromadzenie aldehydów stanowi w procesie szeryzacji pierwszy etap przemian, po czym następują reakcje aldehydów z alkoholami, kwasami i innymi związkami uczestniczącymi w tworzeniu cech tego typu win (głównie w trakcie leżakowania) [13]. Zawartość aldehydów, przy których wina nabierają cech sherry, jest bardzo różna (waha się od 200 do 300 mg/dm^3). W metodach wgłębnych może powstać nawet do 900 mg/dm^3 aldehydów. Ponieważ aldehydy nadają winu ostry smak i zapach, produkty z dużą ich zawartością przeważnie kupażuje się z winami o mniejszej ilości aldehydów.

Wyniki analizy chemicznej win po szeryzacji, poddano ocenie statystycznej (tab. 2). Wpływ zastosowanych metod szeryzacji na zawartość badanych wyróżników (aldehydów, acetalu, estrów i innych) w produktach nie został udowodniony statystycznie. Dlatego też otrzymane wyniki nie będą szerzej komentowane. Przyczyny zachodzących zmian zawartości tych związków zostały szczegółowo omówione we wcześniejszych publikacjach [12, 20, 21].

Proces oksydacji biologicznej spowodował w obrabianych winach obniżenie zawartości alkoholu, ekstraktu ogólnego oraz cukrów ogółem (tab. 1). W wyniku szery-

zacji (20–23 dni) ilość alkoholu w winach zmniejszyła się o 0,3 do 1,1% obj., a ekstraktu ogólnego o 9,4 do 16,5 g/dm³. W tym samym czasie uległa zmniejszeniu zawartość cukrów ogółem o 0,18 do 1,60 g/dm³ (tab. 1). Należy zaznaczyć, że proces szeryzacji prowadzony był w skali laboratoryjnej. Wykonanie takiej obróbki w skali przemysłowej może doprowadzić do istotniejszych zmian w składzie gotowego wina. Straty alkoholu etylowego w czasie szeryzacji zależą głównie od temperatury, napowietrzania, intensywności wzrostu komórek drożdży itp. Powinny być one jak najmniejsze, jednak na podstawie dotychczasowych badań wiadomo, że zawartość alkoholu obniża się w wyniku procesu około 0,3–1,5 % obj. [13].

Wnioski i spostrzeżenia

1. Badane wina uzyskały w wyniku zastosowanych procesów cechy typowe dla szeryzowanych win owocowych. Nastąpiła wyraźna, korzystna zmiana smaku i zapachu tych win.
2. Najwyższą jakość uzyskały wina szeryzowane z użyciem drożdży immobilizowanych na białym szkle piankowym. Niższej jakości wina otrzymano w wyniku szeryzacji metodą rozprysku i napowietrzania.
3. Białe szkło piankowe może być z powodzeniem używane do unieruchamiania drożdży stosowanych w procesie szeryzacji win owocowych.
4. Proces szeryzacji powodował wzrost zawartości aldehydów, acetalu, estrów lotnych, diacetylu i acetoiny oraz obniżenie zawartości alkoholu, ekstraktu, cukrów, kwasowości ogólnej i lotnej, a także garbników.

LITERATURA

- [1] AIDILI - Analytical Instrument Division Instrumentation Laboratory Inc., USA. Instrukcja obsługi, 1977.
- [2] Bakoyianis V., Kanellaki M., Kaliafas A., Koutinas A.: Low-temperature wine making by immobilized cells on mineral kissiris. *J. of Agricult. and Food Chemistry*, **40**, 1992, 1293.
- [3] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: *Mikrobiologia żywności*, PZWL, Warszawa 1983.
- [4] D'Souza S.F., Melo J.S., Deshpande A., Nadkarni G.B.: Immobilization of yeast cells by adhesion to glass surface using polyethylenimine. *Biotechnol. Letters*, **8/9**, 1986, 643.
- [5] Goswell R.W., Kunkee R.G.: Fortified wines, w książce Rose A.H. /red./ *Alcoholic Beverages*. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1977, 477.
- [6] Kana K., Kanellaki M., Psarianos C., Koutinas A.: Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on mineral kissiris. *J. of Ferment. And Bioeng.*, **68**, 1989, 144.
- [7] Pansjuk A.L., Šur I.M., Pelich L.A., Makaštjalene Z.B.: Special'naja technologija dla powyšenija kačestva plodovo -jagodnych vin. *Vinodelie i Vinogradarstvo SSSR*, **4**, 1984, 12.
- [8] Paragul'gov O.D., Telagin J.A.: Sbraživanija susla v ustanovkach s nasadkoj - dejstvennyj sposob ulučšenija kačestva vin. *Vinodelie i Vinogradarstvo SSSR*, **4**, 1984, 4.

- [9] Paragul'gov O.D., Oganėsjač L.A.: Novyj sposob proizvodstva plodovo - jagodnych vin. Vinodelie i Vinogradarstvo SSSR, **4**, 1984, 8.
- [10] Parascandola P., Alterils E., Farris G.A., Budroni M., Scaroli V.: Behaviour of grape must ferment *Saccharomyces cerevisiae* within insolubilized gelatin. J. of Ferment. and Bioeng., **74**, 1992, 123.
- [11] Rostkowska-Demner E.: Wpływ wybranych metod oksydacji biologicznej na skład i jakość win owocowych. Praca doktorska, SGGW, Wydz. Tech. Żywności, Warszawa, 1996.
- [12] Rostkowska-Demner E., Wzorek W.: Biochemiczne zmiany składu wina w procesie szeryzacji, Przem. Ferment. i Owocowo - Warzywny, **11**, 1998, 33.
- [13] Saenko N.F., Kozubov G.I., Averbuch B.Ja., Šur I.M.: Vino cheres i tehnologija ego proizvodstva. Kisinev, 1975.
- [14] Sigal M.M., Svetličnyj E.P.: Opyt proizvodstva vysokokačestvennych vin na Ejskom eksperimental nom vivzavode. Vinodelie i Vinogradarstvo SSSR, **4**, 1984, 1.
- [15] Sroka W., Rzędowski W.: Unieruchamianie drobnoustrojów - metody, rodzaje nośników oraz ich wpływ na właściwości komórek. Przem. Ferment. i Owocowo - Warzywny, **8**, 1991, 8.
- [16] Sroka W., Rzędowski W.: Metody unieruchamiania drobnoustrojów wykorzystywane w procesach fermentacji etanolowej. Przem. Ferment. i Owocowo - Warzywny, **11**, 1991, 5.
- [17] Sur I.M., Chološilova V.G., Saenko N.F., Pleskova G.D.: Ispytanie novego sposobu proizvodstva cheresa. Vinodelie i Vinogradarstva SSSR, **4**, 1981, 15.
- [18] Tsoutsas T., Kanellaki M., Psarianos C., Kalliafas A., Koutinas A.: Kissiris: a mineral support for the promotion of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. J. of Ferment. and Bioeng., **69**, 1990, 93.
- [19] Wzorek W.: Zarys technologii win specjalnych. Przem. Ferment. i Owocowo-Warzywny, **9**, 1988, 12.
- [20] Wzorek W., Rostkowska-Demner E., Lusawa K., Łękowska A.: Wpływ wybranych metod szeryzacji na skład i jakość win owocowych. Przem. Ferment. i Owocowo-Warzywny, **3**, 1991, 8.
- [21] Wzorek W., Rostkowska-Demner E., Nocoń P.: Wpływ wybranych dodatków oraz gatunków drożdży na efekty szeryzacji win owocowych metodami powierzchniowymi. Przem. Ferment. i Owocowo-Warzywny, **11**, 1991, 12.

THE APPLICATION OF FOAM-GLASS AS A YEAST CARRIER IN FRUIT-WINE BIOLOGIC OXIDATION PROCESS

Summary

The main purpose of the work was the comparison of the effects of fruit-wine biologic oxidation process (sherrysation) carried out using yeast immobilized on white foam-glass and the submersion film method (air admission and splash). The sherrysation was carried on laboratory scale. Industrial wines such as: apple and strawberry wine were studied. *Saccharomyces cerevisiae* yeast Bratislava variety were applied. The basic chemical composition of wine before and after sherrysation was analyzed, components influencing the taste and smell and the content of given metals. The organoleptic test was also carried out.

All applied methods have given typical properties for sherry fruit wines. Products of the highest quality were obtained using yeast immobilized on white foam-glass. White foam-glass, due to its porous, solid structure retained on its surface most of the yeast cells, did not give alien taste, it was easy to wash and regenerate it and thus it can be successfully applied to immobilized yeast in fruit-wine biologic oxidation.

