

## SELEKCIJA NARAVNO PRISOTNIH KVASOVK IZ VINOGRADA IN UPORABA V SIMULIRANIH SPONTANIH ALKOHOLNIH FERMENTACIJAH

Spontana alkoholna fermentacija (AF) mošta je kompleks ekoloških, biokemijskih in mikrobioloških interakcij, kjer prevladuje populacija ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* kvasovk. Presnovno jo pričnejo vrste rodov *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia* in *Metschnikowia*, ki imajo šibko fermentacijsko sposobnost in prevladujejo na površini grozdne



jagode ter kletarske opreme. Proti koncu AF prevladujejo različni sevi *Saccharomyces*, ki so odpornejši na večjo vsebnost etanola v vinu ter zmožnost aerobnega in anaerobnega metabolizma, zato imajo pomembno vlogo pri oblikovanju senzorične kakovosti vina. Ne-*Saccharomyces* kvasovke pa imajo večjo hidrolitično aktivnost, ki je pomembna za tvorbo aromatičnih spojin v vinu.

Številčnost in raznolikost kvasovk prisotnih na površini grozdne jagode sta odvisni od sorte grozdja, zrelosti grozdja, klimatskih pogojev, geografske lege, mehanske poškodbe grozdja, intenzivnosti zatiranja škodljivcev, idr. Naravno prisotne kvasovke iz grozdja ali kletarske opreme poudarjajo specifičnost rastišča in pripomorejo k večji prepoznavnosti vin zaradi aromatskih spojin, ki se tvorijo med procesom. Te so lahko pozitivne (višji alkoholi, estri, terpeni, hlapni tioli) ali negativne spojine (acetaldehid, očetna kislina, merkaptani in H<sub>2</sub>S).

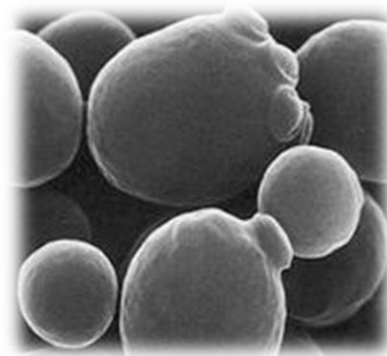


**Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk:**

<b>POZITIVNE LASTNOSTI</b>	<b>NEGATIVNE LASTNOSTI</b>
Fermentacija pri nizki temperaturi	Tvorba žveplovega dioksida
Minimalna faza prilagajanja	Tvorba hlapnih kislin
Odpornost na žveplov dioksid	Tvorba acetaldehida in piruvata
Poraba sladkorja v celoti	Tvorba vodikovega sulfata
Razgradnja jabolčne kisline	Tvorba polifenol oksidaze
Tvorba glicerola	Tvorba prekurzorjev etilkarbamata
Visoka odpornost na etanol	Sposobnost penjenja

V zadnjem času je bila vloga kvasovk v fermentacijskih procesih predmet številnih raziskav, predvsem v smislu njihovega vpliva na kemijske in senzorične lastnosti vina. Raziskave so pokazale, da lahko nekatere ne-*Saccharomyces* kvasovke iz lokalnega okolja tvorijo aromatične spojine, ki značilno vplivajo na senzorično kakovost vina. Ker pa večina od njih ne preživi stresnih razmer med AF, predvsem povečanja vsebnosti etanola, je za dokončanje AF nujno potrebno nadaljnje delovanje kvasovk rodu *Saccharomyces*.

Vse večji poudarek pa se pripisuje spontanim AF z naravno prisotnimi kvasovkami vrste *Saccharomyces cerevisiae*, saj lahko na ta način vinarji pridelajo bolj raznovrstna vina. Za naravno prisotne seve je značilna boljša prilagodljivost tako kemijskim kot mikrobiološkim značilnostim mošta. Spontano AF vinarji uporabljajo zato, ker želijo ohraniti razpoznavne značilnosti svojih vin v povezavi z lastnostmi rastišča.



Namen raziskovalne naloge je izvedba spontane AF z namenom izolacije naravno prisotnih sevov ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* kvasovk iz različnih vinorodnih dežel. Z izolacijo lastnih, za določeno območje značilnih izolatov, želimo izboljšati učinkovitost AF z mešano naravno prisotno mikrobno združbo ter tako povečati vsebnosti pozitivnih nearomatičnih in aromatičnih spojin v vinu.

## Spontane AF in izolacija naravno prisotnih kvasovk

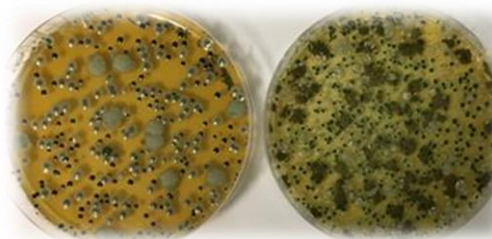
### Od vinograda do laboratorija

- ❖ Iz vinograda aseptično pobereemo manjšo količino grozdja in ga shranimo v sterilno vrečko
- ❖ V laboratoriju ločimo zdrave grozdne jagode od pecljev in pri tem uporabimo sterilno posodo
- ❖ Dodamo antioksidant za ohranjanje arome v moštu in vinu
- ❖ Grozdje stisnemo v sterilni posodi in pretočimo v steklene fermentorje na katere poveznemo vrelnе vehe



### Izolacija kvasovk iz spontane AF

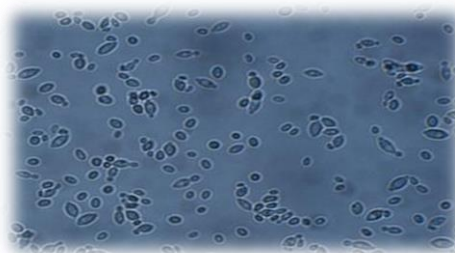
- ❖ Sledi osnovna kemijska analiza mošta (sladkor, pH, skupne kisline, YAN)
- ❖ Posredno tehtanje mase izhajajočega CO<sub>2</sub>
- ❖ Spremljanje populacije kvasovk z nacepljanjem na gojišča



## Kvantitativno in kvalitativno spremljanje populacij kvasovk med AF s kombinacijo klasičnih in molekularnih mikrobioloških metod

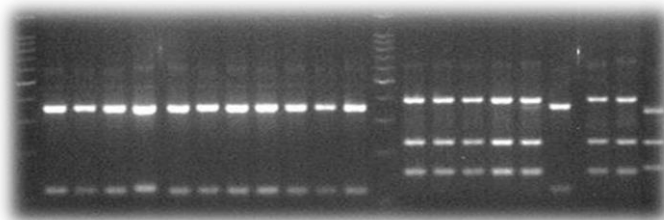
### Klasične metode

- ❖ Identifikacija izolatov z morfološkim pregledom kolonij na agarnih ploščah
- ❖ Mikroskopski pregled kvasnih celic
- ❖ Razvrstitev v morfotipe



## Molekularne metode

- ❖ Izolacija DNK kvasovk
- ❖ Metoda PCR- sekvenciranje na zaporedni regiji D1/D2 ribosomskega 26S gena



Cilj raziskovalne naloge bo izolacija naravno prisotnih izolatov kvasovk iz različnih vinorodnih dežel ter njihova uporaba v inokuliranih AF in s tem simulacija spontane AF. Z izborom vrst in sevov kvasovk lahko dosežemo vključevanje naravno prisotne mikrobne združbe v proces AF z namenom izboljšanja senzorične kakovosti vina z bogatim aromatskim potencialom in poudarjanjem rastišča.



ČUŠ, Franc, ZABUKOVEC, Polona, SCHROERS, Hans-Josef. Indigenous yeasts perform alcoholic fermentation and produce aroma compounds in wine. *Czech Journal of Food Sciences*, ISSN 1212-1800, 2017, vol. 35, no. 4, str. 339-345, doi: 10.17221/398/2016-CJFS. [COBISS.SI-ID 5397864], [JCR, SNIP, WoS do 28. 11. 2017: št. citatov (TC): 0, čistih citatov (CI): 0, čistih citatov na avtorja (CIAu): 0, Scopus do 28. 11. 2017: št. citatov (TC): 0, čistih citatov (CI): 0, čistih citatov na avtorja (CIAu): 0] kategorija: 1A3 (Z); uvrstitev: SCI, Scopus, MBP