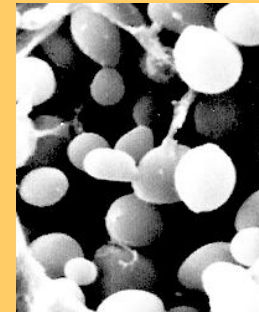


Borászati starterkultúrák fejlesztésének irányai

Dr. Magyar Ildikó
Szent István Egyetem
Borászati Tanszék

Válogatott fejezetek a borászból II.

Borélesztők: *Saccharomyces cerevisiae* és *Saccharomyces uvarum*



- *Saccharomyces sensu stricto* fajok:
 - *S.cerevisiae*
 - *S. uvarum* (régiben: *S.bayanus*)
 - *S. pastorianus*
 - *S. paradoxus*
- A borászati szakirodalomban használt régi elnevezések többnyire a *S. cerevisiae* fiziológiai változatait jelölik
 - (*S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, var. *oviformis*, var. *bayanus* etc.)

I. Hagyományos élesztő starterkultúrák a borászatban

- Borászati törzsselekción
 - A 19 század végétől kezdve minden jelentősebb bortermelő ország létrehozta saját helyi törzsgyűjteményét (*Saccharomyces cerevisiae* különböző fiziológiai változatainak izolálása, jellemzése és szelektálása)
- Kereskedelmi forgalmazás
 - folyékony kultúrák
 - 1960-as évektől : aktív szárított élesztő készítmények (ADY)
- Törzsfejlesztési kutatások
 - szelekció
 - törzsnemesítés (természetes nemesítési módszerek előnyben!)

Borászati fajlesztőkkel szemben támasztott általános követelmények

- jó alkoholtűrés
- megfelelő erjedési sebesség 20 °C alatt
- kis H₂S képzés
- kis ecetsav képzés
- kis acetaldehid termelés
- kevés habképzés
- jó ülepedés
- jó kén-dioxid tűrés
- alacsony karbamid képzés (arginin bontásból)

Egyes starterkultúrák speciális tulajdonságai

- **kiemelkedő cukortűrés**
 - túlérlett szőlő, aszú mustjának erjesztése
- **jó almasavbontó képesség (malo-alkoholos aktivitás)**
 - savas mustok savharmóniájának javítása, MLF elősegítése
- **β-glikozidáz aktivitás**
 - terpén-alkoholok felszabadítása (elsődleges aromaanyagok)
- **különleges aromaanyagok képzése**
 - észterek, egyes kéntartalmú aromaanyagok (pl. Sauvignon)
- **killer aktivitás**
 - jobb versenyzés az eredeti *S. cerevisiae* törzsekkel szemben
- **jó fruktóz hasznosítási képesség**
 - elakadt borok újraindítása

Killer tulajdonság

- Egyes élesztőfajok olyan toxint termelnek, amelyek elpusztítják a többnyire *azonos fajba tartozó, a toxinra érzékeny törzseket*.
 - A legtöbb killer toxin specifikus, csak fajon belül hatékony
 - Magasabbrendű szervezetekre a toxin hatástalan

Killer tulajdonság elterjedtsége

- *S. cerevisiae* killer-fenotípusai
 - Killer: K+R+
 - Szenitív: K-R-
 - Neutrális: K-R+
 - („öngyilkos”: K+R-)
- A borászatban a K2 toxinnak van jelentősége
 - (pH 2,8-4,8)
- A K2 killerek nagyon elterjedtek, de előfordulásuk borvidékenként változó (0-90%)
 - Pl. Bordeaux, Beaujolais – közel 90%

Killer tulajdonság borászati jelentősége

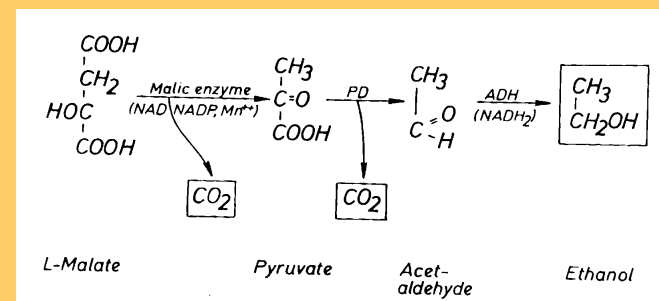
- **A killer borélesztők a vadélesztőket (kevés kivétel) nem pusztítják el!**
- Killer starterkultúrák előnye
 - biztosabb dominancia a „vad” *S. cerevisiae* törzseken :a természetes mikroflóra killer törzsei nem pusztítják el
- Hátrány:
 - Az üzemben elszaporodva a szenitív startereket elpusztíthatják!
- A starterkultúra legyen rezisztens
 - **neutrális törzsek előnyben.**

Killer tulajdonság borászati jelentősége

▪ A killer tulajdonságot a gyakorlatban nem szabad túlértékelni

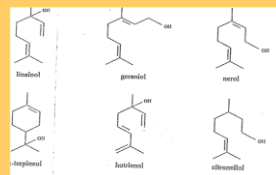
- A killer törzsnek nagy kezdeti populációban kell jelen lennie
- Stacioner fázisú tenyészetek már nem érzékenyek a toxinra
- A toxint a polifenolok közömbösítik (vörösborokban nem hatékony)
- Bentonitos derítéssel, hőkezeléssel a toxin könnyen inaktíválható

Élesztőgombás almasavbontás anaerob körülmények között (malo-alkoholos erjedés)



Béta-glikozidáz aktivitás

- Terpénalkoholok előfordulása a szőlőben:
 - Szabad alkohol- illatos, elsődleges aromaanyag
 - Glikozid (β-D-glikozidos kötés)- nem illatos vegyület
- Egyes *S. cerevisiae* törzsek β-glikozidáz enzimet termelnek – terpénalkoholokat felszabadítják (pl. PM228).
 - A szőlő fajtajelleg fokozódik



II. *Saccharomyces uvarum* törzsek lehetséges alkalmazása

- Előnyök (*S. cerevisiae*-val szemben):
 - magasabb glicerinné képzés
 - alacsonyabb illósav képzés
 - hideg erjesztés (2 - 4 °C-on is!) - hátrány is lehet!
- Hátrányok (*S. cerevisiae*-val szemben):
 - lassabb erjesztés, elhúzódó erjedés
 - eltérő aromaösszetétel (?) - előny is lehet!
 - Pl. sok 2-feniletanol termel – rózsaszínű illat

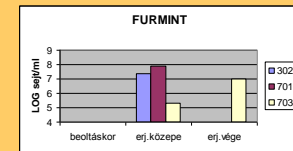
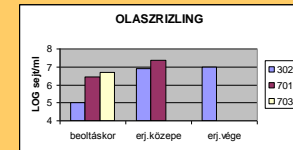
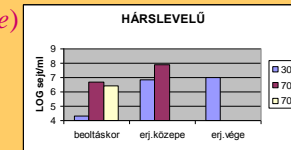
III. Oligo-starterkultúrák (keverék kultúrák) alkalmazása

Cél: a bor összetételének kiegyensúlyozása

1. *Saccharomyces sensu stricto* keverék kultúrák

- *S. cerevisiae* különböző törzseinek együttes alkalmazása beoltásra
- *S. cerevisiae*+ *S. uvarum* törzsek együttes alkalmazása

A populációk változása három élesztőtörzssel végzett beoltás után (*S. cerevisiae*)



Vegyes élesztőpopuláció a 703-as törzs tiszta tenyésztésével beoltott Olaszrizlingben kiejtés után

2. *S. cerevisiae* és nem-*Saccharomyces* fajok alkalmazása keverék kultúrában

Önállóan nem alkalmasak a must teljes kiejtésére!

- *Hanseniaspora uvarum* szelektált törzsei ?
 - Észtertermelő. Kockázat: ecetsav és illó észterek
- *Kluyveromyces thermotolerans* (*Lanhencea thermotolerans*)
 - L-tejsav termelő. Savharmónia javítása lágy borokban? Komplexitás, teltség fokozása
- *Torulaspora delbrueckii*
 - Kevés illósavat termel, és komplexebb a bor. Észtertartalom nő.
- *C. stellata* és *C. zemplinina*
 - Cukortűrő, fruktofil élesztők, kis ecetsav képzéssel és jó glicerinnel (?) termeléssel
 - A *C. stellata* fajról korábban publikált adatok többsége a *C. zemplinina*-ra vonatkozik!

Metchnikowia pulcherrima (*Candida pulcherrima*)

aromafokozás: α -arabinofuranozidáz aktivitás, észterek termelése

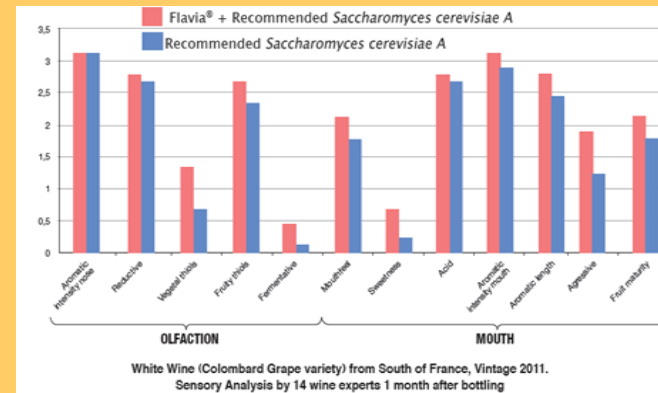
Zygosaccharomyces bailii (forgalomban lévő törzs)

- Fruktofil élesztő, erjedésben megakadt borok újraerjesztéséhez
- Palackstabilitást potenciálisan veszélyeztető élesztőfaj!

Schizosaccharomyces pombe

- Kiváló almasavbontó képesség (maló-alkoholos aktivitás)
- Önállóan musterjesztésre nem alkalmas!
 - Kénhidrogén képzés kockázata
 - Lassú szaporodás
- Jó aromatermelésű törzs már kereskedelmi forgalomban van
 - Törzsjavítási kísérletek- CUB Mikrobiológia Tanszék
 - Kísérletek immobilizást formában való alkalmazásra (alkoholos erjedés végén vagy után)- CUB Borászati Tanszék

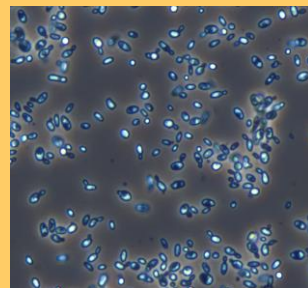
Aroma fokozás lehetősége *Metchnikowia pulcherrima* és *S. cerevisiae* együttes alkalmazásával (piros oszlop)
• Kék oszlop: csak *S. cerevisiae*).



Candida zemplinina – az aszúerjesztésben szerepet játszó vadélesztő

- fruktofil
- cukortűrő
- jó glicerinképző
- kis nitrogén igényű
- A Borászati Tanszéken kutatások folynak jobb megismerésére és alkalmazására

Candida zemplinina



Kereskedelmi forgalomban lévő nem-Saccharomyces starterek

- Chr. Hansen termékek
 - Viniflora Concerto - *Kluyveromyces thermotolerans* **tiszta** tenyésztete. Ráoltás szükséges *S. cerevisiae*-val
 - Viniflora Prelude - *Torulaspora delbrueckii* **tiszta** tenyésztete. Ráoltás szükséges *S. cerevisiae*-val
 - Viniflora Symphony - *Saccharomyces cerevisiae* és a *Kluyveromyces thermotolerans* **keverék** kultúrája (80:20)
 - Viniflora Rhythm - *Saccharomyces cerevisiae* és a *Kluyveromyces thermotolerans* **keverék** kultúrája (60:40)
 - **Viniflora Melody** - *Saccharomyces cerevisiae*, a *Kluyveromyces thermotolerans* és a *Trulaspora delbrueckii* **keverék** kultúrája (60:20:20)

Kereskedelmi forgalomban lévő *nem-Saccharomyces* starterek

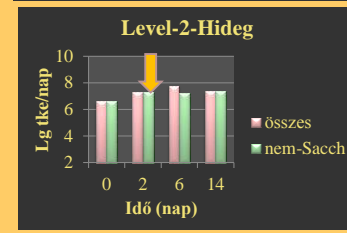
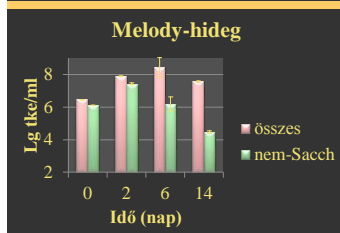
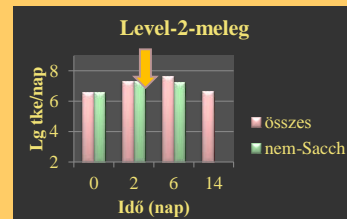
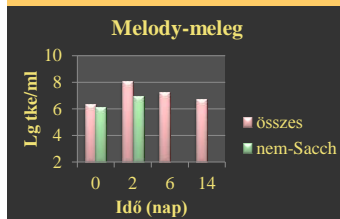
■ Lallemand termékek

LEVEL 2[™]

- Level2- *Torulaspora delbrueckii* tiszta tenyészet. Ráoltás szükséges *S. cerevisiae*-val
- Flavia – *Metchnikowia pulcherrima* tiszta tenyészet. Ráoltás szükséges *S. cerevisiae*-val

Kevert kultúrák populáció dinamikája szőlőmustban

Meddig marad életben a *nem-Saccharomyces* törzs?



(Rádli, 2015)

IV. Módosított tulajdonságú törzsek előállítása: törzsnemesítési módszerek

- Irányított mutáció
 - mutagén kezelés után a kedvező tulajdonságú mutánsok szelekciója és fenntartása
- Ivaros hibridizáció
 - ellentétes ivarú haploid törzsek keresztezése
- Szomatikus hibridizáció (protoplaszt fúzió)
 - sejtfaluktól megfosztott sejtek fúziója
- Rekombináns-DNS-technika (génsebészet)
 - idegen sejt DNS-ének kihatása, bevitele a sejtbe és integrálása a sejtmagba –GMO!

Géntechnológiai eljárásokkal előállított fájlesztő törzsek (GM élesztők)

Első rekombináns (USA-ban forgalomban lévő) törzs: **MLO-1** (2008)

- Alkoholos és malolaktikus erjedést együtt elvégzi
-*S.cerevisiae*+*Schiz. pombe* (malát-permeáz) +*Oenococcus oeni* (malolaktikus enzim)

Kísérletileg már előállított, de nem forgalmazott törzsek:

- Malo-alkoholos erjedés
 - *S.cerevisiae*+*Schiz. pombe*
- Fehérjebontó képesség
 - *élesztő*+*baktérium*
- Béta-glukanáz aktivitás
 - *élesztő*+*fonalgomba*

Tendenciák a törzsnemesítésben

- A GMO-t tartalmazó starterkultúrákat a termelők jelenleg nem használják a fogyasztók elutasító magatartása miatt!
 - Ezért, valamint a szigorú jogi szabályozás miatt a starterkultúra gyártók jelenleg nem érdekeltek az ilyen törzsek forgalmazásában
 - Előnyt élveznek a hagyományos eljárások (törzsszelekció, mutáció, hibridizáció), valamint a keverék kultúrák
- A természetes élesztőkön belül a *nem-Saccharomyces* fajok iránti érdeklődés további erősödése várható – a szelekció új iránya az extracelluláris enzimtermelés (pl. proteáz, glükózidáz enzimek)
- A géntechnológia belátható időn belül a borászatban is alkalmazást nyer!