

## VIZSGÁLATOK EGY MAGYAR BORELESZTŐ ALKOHOLADAPTÁCIÓJÁRÓL

CSIK LAJOS, PAZONYI BÉLA, ZSOLT JÁNOS

(Érkezett: 1951 október 1-én.)

Az élesztők alkoholerjesztése fontos iparok alapja és így jelentős gazdasági tényező. Ennek kapcsán gyakorlati érdekűek az élesztők alkoholadaptációjára vonatkozó vizsgálatok. Feltűnő, hogy ennek ellenére a rendkívül gazdag élesztőirodalomban milyen kevés adatot találunk az élesztők alkohol-tűrésének kísérleti megváltoztatásáról, alkoholadaptációjáról.

Az élesztők alkoholadaptációjáról mintaszerű kísérleteket elsősorban a szovjet irodalomban kell keresnünk. SZAENKO (1950) az alkoholkoncentráció fokozatos emelésével lényegesen emelni tudta a Xeres 20 jelzésű hártaképző élesztőtörzs alkoholtűrő képességét és ezzel a borgazdaságok számára olyan tényezteteket állított elő, mellyel a darabban tartott sherry jellegű borok alkoholtartalma 17%-ig emelhető és ezáltal azok megmenekülnek az alacsonyabb alkoholtartalomnál gyakran bekövetkező ecetesedéstől.

Általánosan ismert jelenség, hogy magas hőmérsékleten az erjedés hamar megakad. Még bőven van erjeszthető cukor, még az alkoholkoncentráció sem túl magas, az erjedés mégsem folyik tovább. Ezt úgy szokták magyarázni, hogy magas hőfokon az alkohol toxicitása nagyobb. (REQUINYI, Soós, 1935). Ez a magyarázat azonban a problémának csak egyik oldalát világítja meg. Figyelembe kell még venni azt is, hogy az erjedő lében élő szervezetek vannak, melyek az erjedésokozta környezetváltozás következtében maguk is változnak. Saját kísérleteinkben épp ezt a megváltozást igyekeztünk kimutatni.

Abból a feltevésből indultunk ki, hogy a magas hőfokon futó erjedések azért akadnak meg, mert a magas hőmérsékleten gyorsan folyó erjedés okozta gyors alkoholemelkedéshez az élesztősejtek nem tudnak elég gyorsan alkalmazkodni. Az a közismert tapasztalat, hogy alacsonyabb hőfokon olyan levek is teljesen kiejednek, melyekben az erjedés magasabb hőfokon hamar megakad, csak valószínűvé teszi feltevésünk helyességét, de még nem bizonyítja azt. Hiszen számolnunk kell az alkoholnak magasabb hőfokon kétségtelenül nagyobb toxicitásával. Ha azonban gondoskodunk arról, hogy a táptalajban az alkoholkoncentráció a magas hőmérséklet ellenére is csak lassan emelkedjék, várhatjuk, hogy a lassan emelkedő alkoholkoncentrációhoz az élesztők alkalmazkodni fognak.

## KÍSÉRLETI ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Kísérleteinkhez a Szőlészeti Kutatóintézet Balatonfüred 2 jelzésű, általunk jól ismert törzsét használtuk. (ÁSVÁNY, NYERGESNÉ, ZSOLT 1949., BÁNHIDI 1948., ZSOLT, BÁNHIDI, 1948.)

Tenyésztőedényként 500 ml-es Erlenmeyer lombikot, tápoldatként 0,5% glukózt tartalmazó élesztőfőzetet alkalmaztunk.

Az élesztősejtek a táptalajban lévő glukózból lényeges mennyiségű alkoholt nem erjeszthettek. Az alkoholkoncentrációt 96%-os sterilizált alkohol időnkénti adagolásával emeltük. Kísérlet közben kevés glukózt is adtunk a tenyészetekhez, hogy a populációknak szénforrás álljon rendelkezésre.

A tenyészeteket 30 fokos termosztátban tartottuk.

Az erjesztőképességet a tenyészetekből kivett 2 ml-nyi mintákon határoztuk meg WARBURG-készüléken 0,3 ml 25%-os glukóz oldat hozzáadása után 30 fokon. Az alábbiakban megadott értékek a 2 ml-es minták által egy óra alatt fejlesztett széndioxidot tüntetik fel normál köbmilliméterben.

Az alkoholtartalom meghatározására 20 ml-nyi mintát  $\frac{3}{4}$  részben lepároltunk, a párlatot 20 ml-re feltöltöttük és alkoholtartalmát merülő refraktométerrel mért refrakciós érték alapján a WAGNER-féle alkohol táblázatból kerestük ki. Az alábbiakban feltüntetett értékek térfogat %-ot jelentenek.

A 0,5%-os glukózos élesztőfőzetből 250—250 ml-t tartalmazó lombikokba 15—15 ml steril, 96%-os alkoholt adagoltunk és így a táptalajok alkoholtartalmát 5,44%-ra állítottuk be. Ezután beoltottuk őket 1—1 ml élesztősuszpenzióval.

A továbbiakban lombikjainkat 3 csoportra osztottuk. Az egyes csoportok alkoholtartalmát különböző gyorsasággal emeltük. Az első sorozatban a kísérlet első napján kívül a 6. és a 9. napon adagoltunk 15—15 ml alkoholt. A második sorozatban az 1.-n kívül a 9. és a 18. napon, míg a harmadik sorozatban az alkohol adagolást még jobban elnyújtottuk. Elméletileg háromszor 15 ml 96%-os alkohol adagolásával az alkoholkoncentrációnak 17,7%-ra kellett volna emelkednie. Számolnunk kellett azonban a magas hőfokon a csak vattadugóval elzárt lombikokban párolgás okozta jelentős alkoholvesztéssel is, különösen a hosszúra nyúlt II. és III. sorozatban. Másrészt a mintavételek következtében beálló térfogatcsökkenés is lényeges eltérést okozott az elméletileg számított és a valóságban meglévő alkoholkoncentráció között. Ezért időnkint alkoholmeghatározásokat végeztünk és szükség szerint további alkoholadagolást eszközöltünk. Az alkoholadagolásokat, az alkoholmeghatározások eredményeit és a cukoradagolásokat a kísérletsorozatok táblázatos ismertetésénél minden esetben feltüntetjük.

## KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK

Az I. sorozatot — ahol az alkoholkoncentrációt a leggyorsabban emeltük — az 1. táblázatban foglaltuk össze.

Mint láthatjuk, a gyorsan emelkedő alkoholkoncentrációhoz a sejtek nem tudtak alkalmazkodni és erjesztőképességüket a 11. kísérleti napon



1. táblázat

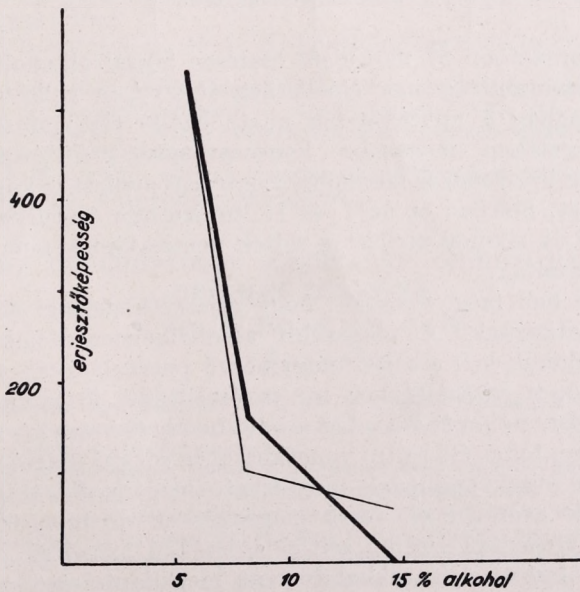
Kísérleti napok	Adagolt alkohol ml	Alkohol térf. %, számított	Alkohol térf. %, meghatározott	Glukóz adagolás %-ban	Erjesztőképesség
1.	15	5,44	—	—	—
4.	—	—	—	—	543,6
6.	15	8,06	—	—	506,0
8.	—	—	—	—	160,4
9.	15	14,65	—	0,5	—
11.	—	—	—	—	000,0

14,65% alkohol mellett már teljesen elvesztették, sőt el is pusztultak. Többször is megkísérelt kioltásaink egyszer sem vezettek fejlődésre.

A második sorozat eredményeit a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat

Kísérleti napok	Adagolt alkohol ml	Alkohol térf. %, számított	Alkohol térf. %, meghatározott	Glukóz adagolás %-ban	Erjesztőképesség
1.	15	5,44	—	—	—
4.	—	—	—	—	543,6
9.	15	8,06	—	—	402,7
15.	—	—	—	0,5	100,5
18.	15	14,65	—	—	—
21.	—	—	—	—	59,4
26.	—	—	14,46	—	—
27.	10	17,30	—	—	—
28.	—	—	17,04	—	000,0



1. ábra. Magyarázat a szövegben.

Mint láthatjuk, a lassúbb alkoholkoncentráció emelkedés következtében e sorozatnál az előzővel szemben már bizonyos fokú adaptáció mutatkozik. Bár a 28. napon 17,04% alkohol mellett erjesztés már nem volt, szembeszökő, hogy 14,46% alkoholnál, ahol az I. sorozatban erjedés már nem mutatkozott, itt 59,4-es értéket kaptunk. Ezt tünteti fel az 1. ábra, ahol az erjesztőképességet mint az alkoholkoncentráció függvényét tüntettük fel. A vastagon húzott görbe az I. sorozat gyorsan emelkedő alkoholkoncentrációi, a vékonyan húzott görbe a II. sorozat lassabban emelkedő alkoholkoncentrációi mellett tünteti fel az erjesztőképességet.

A III. sorozatban az alkoholadagolást még jobban széthúztuk és egyszerre adott alkoholmennyiségek is kisebbek voltak. Az eredményeket a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat

Kísérleti napok	Adagolt alkohol ml	Alkohol térf. %, számított	Alkohol térf. %, meghatározott	Glukóz adagolás %-ban	Erjesztőképesség
1.	15	5,44	—	—	—
4.	—	—	—	—	543,6
12.	15	8,06	—	—	338,2
23.	—	—	—	0,5	68,9
32.	—	—	—	—	141,2
33.	5	12,40	11,18	—	—
40.	5	13,50	—	—	92,8
43.	—	—	12,80	—	47,7
46.	5	14,65	—	—	30,3
47.	—	—	—	0,5	—
48.	—	—	14,40	—	31,1
51.	5	16,00	—	0,5	—
54.	—	—	16,78	—	2,93

Ebben a sorozatban 51 nap alatt összesen 50 ml alkoholt adagoltunk. Ezzel az alkoholkoncentrációnak elméletileg 16,00%-ra kellett volna emelkednie. A valóságban a mintavételek miatt beálló térfogatesökkenés és a párolgás következtében magasabb koncentrációt 16,78%-ot észleltünk. Az 54. napon még ilyen magas alkoholkoncentráció mellett is kaptunk csekély mértékű erjesztést. Feltűnő ez az I. és II. sorozatban észleltekkkel szemben, ahol 14,65 ill. 17,04 alkohol mellett a sejtek nemcsak hogy nem erjesztettek, hanem el is pusztultak.

Figyelembe kell még vennünk, hogy erjesztőképességi adataink 2 ml tenyésztetre vonatkoznak. A magasabb alkoholkoncentrációknál azonban feltétlenül számolnunk kell a sejtek nagymérvű pusztulásával, amit a tenyészetek mikroszkópos vizsgálatakor mi is észleltünk (SZAENKO 1950). Az észlelt kis erjesztési értékeket a 2 ml-es mintákban levő aránylag nagyon kevés élő sejt hozta létre, tehát élő sejtre vonatkoztatva sokkal magasabb értékeket kapnánk. Az élő sejtek számának megbízható megállapítását lemezöntéssel nem végezhetjük azonban el, mert magasabb alkoholkoncentrációknál a különben poros ülepedésű élesztő sejtjei csomókká tapadtak össze. Az élő sejtek számának festési eljárásokkal történő megállapításától pedig e módszerek kétes megbízhatósága miatt tekintettünk el (FINK 1931).



A III. sorozatban a 32. napon észlelt erjesztőképességemelkedés a 23. napon észlelten szemben részben a közben párolgás folytán beálló alkoholkoncentrációcsökkenésnek, részben a 23. napon adagolt glukóznak tulajdonítható.

Kísérleteink eredményeit összegezve megállapíthatjuk, hogy magas hőmérsékleten (30 fokon) lehetséges adaptáció egész magas alkoholkoncentrációkhoz is, ha gondoskodunk arról, hogy az alkoholkoncentráció csak lassan emelkedjék.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A Balatonfüred 2 magyar borélesztő erjesztőképességének változását vizsgáltuk 30 fokon különböző gyorsasággal emelkedő alkoholkoncentráció mellett. Az alkoholkoncentráció különböző gyorsaságú emelkedését steril alkohol adagolásával valósítottuk meg a csak 0,5% glukózt tartalmazó tenyészetekben. Még ilyen magas hőfokon is mutatkozik adaptáció, ha az alkoholkoncentrációt elég lassan emeljük. Kísérleteinkben 16,78 térf. % alkohol mellett is maradtak erjesztőképes sejtek, mikor az alkoholkoncentráció emelését 51 napra nyújtottuk el — ugyanakkor ha az alkoholkoncentrációt 9 nap alatt emeltük 14,65%-ra, a tenyészetben erjesztést nem tapasztaltunk.

## IRODALOM.

ÁSVÁNY Á., NYERGES P.-NÉ és ZSOLT J. (1949): A magyar borélesztők az Országos Magyar Szőlő- és Borgazdasági Kísérleti Intézet Gyűjteményében. — *Agrártudomány* 1: 134—135.

BÁNHIDI Z. G. (1948): Genetical investigations of a Hungarian wine yeast. — *Arch. Biol. Hung.* 18: 369—376.

ZSOLT, J. K. and BÁNHIDI Z. G. (1948): No inbreeding degeneration in a Hungarian wine yeast. — U. ott, 18: 377—383.

FINK, H. (1931): Beiträge zur Methylenblaufärbung der Hefezellen und Studien über die Permeabilität der Hefezellmembran. — *Hoppe Seylers Z.* 195: 215—240.

REQUINYI G., Soós I.: (1935): Különböző hőmérsékleten végzett erjesztési kísérletek. — *Ampelológiai Int. Évkönyve.* 9: 405.

SZAEENKO, N. F.: (1950): (Sherry élesztők alkoholtűrésének emelése irányított szoktatással.) — *Vinogelijje Vinogradszto* 2: 22—26.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СПИРТОВОЙ АДАПТАЦИИ ОДНОГО ИЗ ВЕНГЕРСКИХ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

Л. Чик, Б. Пазони и Я. Жольт

### Резюме

Нами проверена при температуре в 30° и при концентрации спирта, повышающейся с различной скоростью, способность к сбраживанию венгерских винных дрожжей из района Балатонфюред и с обозначением 2.

Повышение концентрации спирта с различной скоростью осуществлялось в культурах, содержащих лишь 0,5% глюкозы, путем прибавления стерильного спирта. Повышая достаточно медленно концентрацию спирта, адаптация проявлялась даже при таких высоких температурах. В течение проведения наших опытов при объемном проценте спирта, 16,78 оставались клетки, способные к сбраживанию, когда мы растягивали повышение концентрации спирта на 51 день; однако, когда мы повышали концентрацию спирта в течении 9 дней до 14,65%, сбраживания в культуре не было.

INVESTIGATION OF THE ALCOHOL ADAPTATION OF A HUNGARIAN WINE  
YEAST

L. CSIK, B. PAZONYI and J. ZSOLT

*Summary*

Changes in fermentative capacity of Balatonfüred 2 a Hungarian wine yeast were investigated at 30 degrees and with alcohol concentrations rising at different rates. The different rates of increase in alcohol concentration were effectuated by adding sterile alcohol to cultures containing only 0.5% glucose. Adaptation is shown even at such high temperatures if the alcohol concentration rises slowly enough. In our experiments there were cells still capable of fermentation at 16.78 volume % alcohol when the rise in alcohol concentration extended over 51 days, whereas if we raised the alcohol concentration to 14.65% in 9 days we found no ferment in the culture.