

Studiul unor factori care decid procesele vital – metabolice de creștere și reproducere a bacteriilor acetice prezente pe struguri, în must și vin

(Rezumat)

Lucrarea este prezentată de-a lungul a 204 pagini și are următoarea structură:

Introducere

Capitolul I. Cercetări efectuate pe plan național și mondial privind ecologia bacteriilor acetice

Capitolul II. Scopul lucrării, obiectivele de cercetare, metodele de lucru și materialele folosite

Capitolul III. Rezultate obținute

Capitolul IV. Concluzii generale și recomandări

Bibliografie

Sunt menționate un număr de 185 lucrări științifice, tratate și monografii, publicate în România și marile țări viticole ale lumii.

Scopul lucrării și obiectivele de cercetare

Bacteriile acetice sau acetobacteriile, agenții oțetirii vinurilor sunt microorganisme ce aparțin genului *Acetobacter*, familiei *Pseudomonadaceae*. Ele sunt foarte răspândite în natura și sunt întâlnite pe strugurii copti, îndeosebi pe cei mucegăiți ori atacați de insecte; sunt de asemenea întâlnite pe utilajele din crame și pivnițe și se cunoaște de mult timp rolul jucat de drosofile în răspândirea lor. Existente în oricare vin, bacteriile acetice așteaptă condiții favorabile pentru a se

înmulți. Acetobacteriile sunt singurele bacterii capabile să oxideze etanolul în acid acetic în condiții de mediu acid; unele („supraoxidante”) în aceleași condiții, oxidează chiar mai departe acidul acetic până la dioxidul de carbon și apă. Prezența bacteriilor acetice este ușor decelabilă datorită multiplicării sub formă de voal la suprafața vinului. Înmulțirea provoacă deprecierea calității acestuia în așa măsură încât el devine impropriu consumului ca atare. Când Louis Pasteur și-a publicat studiile sale asupra vinului, oțetirea era boala cea mai comună. Descoperirea bacteriilor acetice și cunoașterea condițiilor lor de viață a permis prevenirea eficientă a acestei alterări, din păcate însă în procesul de producere a vinurilor din România, datorită unor grave neglijențe, intervenția acestei alterări se mai resimte.

În literatura de specialitate din România nu sunt semnalate studii sistematice în legătură cu factorii care decid stimularea sau inhibarea activităților vital – metabolice ale bacteriilor acetice specifice vinurilor.

Drept consecință, ne-am propus ca în perioada 2005 – 2008, să surprindem o parte din factorii care decid procesele vital – metabolice de creștere și reproducere ale bacteriilor acetice prevăzute pe struguri, în must și vin.

Programul de cercetare a fost materializat pe struguri, must și vin în cadrul societății comerciale „Domeniul Coroanei” Segarcea și în cadrul Laboratorului de Microbiologie al Facultății de Horticultură din Craiova.

Obiectivele cercetărilor noastre s-au referit la :

1. Evidențierea condițiilor climatice a anilor viticoli în care s-au obținut strugurii materie primă pentru vin;
2. Evidențierea prezenței bacteriilor acetice pe struguri și în must;
3. Evidențierea bacteriilor acetice pe parcursul desfășurării fermentației alcoolice;
4. Evidențierea bacteriilor acetice pe parcursul fermentației malolactice;

5. Influența concentrației alcoolice și a pH - ului asupra proceselor vital - metabolice ale bacteriilor acetice;
6. Influența cantităților de oxigen asupra proceselor vital-metabolice ale bacteriilor acetice,
7. Influența numărului inițial de celule ale bacteriilor acetice rămase la suprafața vinului asupra vitezei lor de dezvoltare;
8. Influența dozelor de anhidrida sulfuroasă (SO₂) asupra proceselor vital – metabolice ale bacteriilor acetice;
9. Influența temperaturii asupra limitei de creștere a bacteriilor acetice și limita de distrugere termică a acestor bacterii prezente în vin.

Rezultate obținute

În urma studiilor întreprinse, în perioada 2005 – 2008, asupra unor factori care decid procesele vital – metabolice de creștere și reproducere ale bacteriilor acetice prezente pe struguri, în must și în vin se pot desprinde câteva concluzii și recomandări atât sub aspect științific, dar mai ales practic.

1. Cuantumul prezenței bacteriilor acetice pe struguri și în must este dependent de starea sanitară a strugurilor, care la rândul ei este dependentă de excesul de umiditate și de temperaturile din atmosferă din perioada de desăvârșire a procesului de coacere a strugurilor. Zestrea genetică a strugurilor joacă de asemenea un rol important.

Este demonstrat că strugurii soiurilor albe sunt atacați de putregaiul cenușiu în proporții mult sporite față de strugurii a căror boabe au culoarea neagră și pielea mai groasă;

2. Condițiile favorabile în care se desfășoară procesele vital – metabolice de creștere și reproducere ale levurilor și bacteriilor acetice sunt diferite.

Primele pot să-și asigure energia necesară desfășurării acestor procese în condiții de anaerobioză, iar bacteriile acetice numai în condiții de aerobioză.

Pe parcursul desfășurării procesului fermentației alcoolice a mustului soiurilor albe (Sauvignon) în faza de lag, prezența bacteriilor acetice este relativ la același nivel cu cea înregistrată la obținerea mustului. În faza exponențială a fermentației alcoolice prezența bacteriilor acetice cunoaște o scădere, pentru ca la sfârșitul procesului de fermentație alcoolică să se înregistreze o sporire a numărului de celule bacteriene.

La vinificarea în roșu, când utilizăm temperaturi relativ scăzute, 18 – 20⁰C și nu 28 – 30⁰C, prezența bacteriilor acetice înregistrează aceeași evoluție, numai că numărul celulelor de bacterii este mai semnificativ ca la vinificația în alb, ca urmare a tehnologiei specifice;

3. Prezența mai numeroasă a bacteriilor acetice în faza de lag și de la sfârșitul fermentației alcoolice este legată nemijlocit de prezența oxigenului;

4. Prezența într-un număr mai mare a bacteriilor acetice în cazul mustului (la vinificarea în alb) și a mustuielii (la vinificarea în roșu), provenind de la strugurii atacați de putregaiul cenușiu se explică prin încărcătura mare inițială a strugurilor cu bacterii acetice, uneori în detrimentul levurilor;

5. În cazul recoltelor de struguri cu atac de putregai cenușiu se impune în mod obligatoriu operațiunea de limpezire severă a mustului înainte de fermentația alcoolică și utilizarea de levuri selecționate pentru catalizarea acestui proces;

6. Pe parcursul desfășurării fermentației malolactice a vinurilor roșii, mediul vin oferă condiții diferite desfășurării proceselor metabolice ale bacteriilor acetice față de cele lactice. Cantitățile de oxigen sunt extrem de limitate pentru bacteriile acetice, dar suficiente pentru bacteriile lactice.

Dozele de anhidridă sulfuroasă nu sunt deranjante pentru bacteriile lactice, dar inhibă suficient de eficient procesele metabolice ale bacteriilor acetice.

7. Deși cantitățile de oxigen prezente în vin, pe parcursul fermentației malolactice sunt mici, s-a constatat că pot fi suficiente pentru supraviețuirea bacteriilor acetice;

8. La sfârșitul fermentației malolactice, când pe seama operațiunilor de transvazare a vinului în vederea învechirii la vase de stejar de mici capacități (220 – 250 litri) sporește proporția de oxigen în vin, drept consecință se constată o sporire a numărului de bacterii acetice;

9. Studiul nostru demonstrează faptul că pentru desfășurarea fermentației malolactice, atât de necesară pentru vinurile roșii de calitate superioară; oenologul trebuie să cunoască și să asigure toți factorii care decid desfășurarea acestei fermentații, dar să nu neglijeze pârghiile prin care poate împiedica activitatea metabolică a bacteriilor acetice.

Neglijarea acestui din urmă aspect, cu siguranță, procesul de elaborare al vinurilor roșii de calitate este compromis;

10. Concentrația alcoolică a vinului coraborată cu valoarea pH-ului reprezintă doi factori care influențează prezența și activitatea bacteriilor acetice în vin. În cazul prezenței inițiale a bacteriilor acetice în același număr, indiferent de concentrația alcoolică a vinului, valorile pH-ului de 2,8 – 3,0 sunt cele care împiedică desfășurarea unei activități metabolice a bacteriilor acetice, abia la valori ale pH-ului de 3,4 – 3,5 activitatea metabolică a acestora poate fi evidențiată.

- 11.** Concentrația alcoolică ridicată pare să constituie o piedică în calea desfășurării activității metabolice a bacteriilor acetice, chiar la valori ale pH-ului de 3,4 – 3,5;
- 12.** Realizarea de vinuri cu aciditate fixă mai mare și deci cu un pH mai coborât alături de o concentrație alcoolică mai ridicată (minimum 12,5% alcool), poate constitui pentru categoria vinurilor albe seci de calitate superioară, o speranță că în cazul unui număr inițial restrâns de celule ale bacteriilor acetice, aceste vinuri pot fi mai ferite de oțetire;
- 13.** În cazul vinurilor roșii de calitate superioară, la care este de preferat o aciditate fixă mai mică, ca la vinurile albe, pentru a le face mai plăcute la gust, este necesar să alăturăm și alte pârgii prin care să înlăturăm declanșarea unei activități metabolice a bacteriilor acetice;
- 14.** Singure, concentrația alcoolică și pH-ul coborât (sub 3,0) nu pun la adăpost, oricare tip de vin, de o eventuală activitate metabolică a bacteriilor acetice;
- 15.** Oxigenul poate fi considerat ca un factor principal de limitare a activității vital – metabolice a bacteriilor acetice, acestea având un metabolism strict aerob, în care oxigenul este utilizat ca acceptor terminal de electroni, pe parcursul procesului de respirație. Oxigenul este deci indispensabil pentru multiplicarea bacteriilor acetice;
- 16.** Creșterea numărului de celule viabile, ale bacteriilor acetice, și respectiv acumularea de acid acetic în vin sunt mai mult dependente de volumul de oxigen prezent în vin decât de concentrația în alcool a vinului;
- 17.** Pentru oenolog este important de știut că pe durata păstrării vinului; mai ales în vase de lemn de stejar, aportul de oxigen trebuie să fie extrem de limitat, deci vasele trebuie ținute pe plin. Pentru vinurile albe, în perioada de depozitare până la condiționarea finală și îmbuteliere este mai recomandabilă utilizarea recipientelor

din inox. La vinurile roșii trecute la învechire, în vase de stejar de mică capacitate (225 – 250 litri) trebuie să evităm golurile ce se pot forma și prin intermediul cărora oxigenul pune în activitate metabolică bacteriile acetice cu consecințe nefaste;

18. Utilizarea unui inhibitor (SO_2) al activității bacteriilor acetice în doze limitate de lege, nu are efect;

19. Activitatea metabolică intensă a bacteriilor acetice, în cazul prezenței lor într-un mediu favorabil, este determinată în primul rând de micimea celulelor, de raportul mare ce se înregistrează între suprafața și greutatea celulei. Celula bacteriană are de aceea o suprafață de absorbție proporțional foarte mare, motiv pentru care procesele de asimilare și sinteză, de creștere și reproducere se desfășoară într-un timp foarte scurt;

20. Numărul inițial de celule ale bacteriilor acetice rămase la suprafața vinului influențează pozitiv viteza lor de dezvoltare dar și acumulările de acid acetic în vin.

Dublarea numărului de celule bacteriene rămase la suprafața vinului, face să se acumuleze cantități duble de acid acetic în vin. Pentru acest motiv oenologul trebuie să întreprindă toate măsurile ce se impun pentru a limita numărul de bacterii acetice prezente la suprafața vinului sub $10 - 10^2$ U.F.C / ml;

21. După apariția voalului la suprafața vinului numărul bacteriilor acetice se amplifică, putând ajunge la $10^{11} - 10^{12}$ U.F.C / ml vin, fiind create toate condițiile ca procesul de oțetire al vinului să se intensifice;

22. Odată cu prezența unui număr mare de bacterii acetice în voalul vinului procesul de oțetire a acestuia continuă.

Se constată că pe măsură ce în masa vinului se acumulează cantități tot mai mari de acid acetic, bacteriile acetice, deși în număr mare, își diminuează procesele metabolice, drept rezultat rata medie de formare a noilor cantități de acid acetic scade. Drept urmare deducem că un vin poate ajunge ca prin proporțiile ridicate de acid acetic formate să devină impropriu pentru consum, dar că același vin, chiar dacă procesul de oțetire continuă, el nu poate fi definitivat în asemenea condiții. Pentru a se obține oțet trebuie asigurate cu totul alte condiții pentru ca bacteriile acetice să fie în stare de a oxida întreaga cantitate de alcool etilic la acid acetic.

23. Inhibiția bacteriilor acetice prin anhidridă sulfuroasă este deosebit de pronunțată. Acidul sulfuros provoacă o inhibiție a fermentației acetice și după un timp de contact conduce la distrugerea bacteriilor acetice;

24. Efectul antiseptic al SO_2 asupra bacteriilor acetice (ca și asupra altor microorganisme din must și vin) este datorat acidului sulfuros (H_2SO_3), nedisociat (SO_2 activ) și nu ionilor și cu atât mai puțin acidului sulfuros combinat;

25. Acțiunea antiseptică a SO_2 variază cu vârsta celulei bacteriei, numărul populației, temperatura, pH-ul și compoziția mediului (îndeosebi populația aldehydelor și alcoolului);

26. Dozele de SO_2 liber mai mici de 10 mg / l, fără intervenția altor mijloace (filtrarea microbiologică) nu pun la adăpost vinurile de efectul desfășurării proceselor vital – metabolice ale microorganismelor, în cazul nostru a bacteriilor acetice;

27. Atât la vinurile albe, dar mai ales la cele roșii asigurarea unor doze de SO_2 liber de cca 15 – 20 mg / l protejează vinurile îndestulător. Doze de SO_2 liber mai mari de 20 mg / l, îndeosebi la vinurile roșii deși oferă protecție antimicrobiană

mai eficace, împiedică desfășurarea normală a celorlalte etape de desăvârșire a calității vinurilor;

28. Temperatura este un factor determinant; oțetirea vinurilor progresează cu atât mai repede cu cât temperatura este mai ridicată; aciditatea volatilă formată la începutul alterării este de două ori mai mare la 28⁰C decât la 23⁰C și de două ori mai rapidă la 23⁰C decât la 18⁰C;

29. Este foarte important de cunoscut, în practica oenologică, că temperatura optimă de creștere pentru bacteriile acetice se găsește în intervalul 25 – 35⁰C. La temperaturi mai joase bacteriile acetice pot fi încă active și la 10⁰C. Ca urmare este dificil să trasăm un interval strict de temperatură în care aceste bacterii se pot dezvolta, temperaturile utilizate pe parcursul procesului de elaborare a vinului par să nu afecteze creșterea bacteriilor acetice;

30. Limita creșterii bacteriilor acetice este influențată de temperatură. Temperaturile de 8 – 12⁰C menținute pe durata păstrării vinurilor albe, indiferent de concentrația lor în alcool etilic, pot menține pe loc procesele vital – metabolice ale bacteriilor acetice. Temperaturile de peste 12⁰C și până la 40 – 45⁰C stimulează procesul de multiplicare a bacteriilor acetice și de intensificare a proceselor metabolice, prin intermediul cărora vinurile se îmbogățesc în acid acetic, putând ajunge la conținuturi care le fac inacceptabile pentru consum.

În cazul vinurilor roșii, indiferent de concentrația lor în alcool etilic temperaturile care limitează creșterea bacteriilor acetice sunt ceva mai mari, 12 – 17⁰C.

Peste această temperatură, cu atât mai mult la vinurile slab alcoolice, și până la 40 – 45⁰C procesul de creștere al bacteriilor acetice nu este stânjenit, vinurile acumulând cantități nepermis de mari ale acidului acetic;

31. Temperaturi de 30 – 55⁰C nu contribuie la distrugerea bacteriilor acetice, ci dimpotrivă contribuie la multiplicarea lor, atât în cazul vinurilor albe cât și a celor roșii, indiferent de concentrația lor alcoolică. Se pare totuși că vinurile cu un conținut în alcool, mai mare conduc la o limită mai coborâtă a temperaturii de distrugere a bacteriilor acetice. La o durată de expunere de 5 – 10 minute la temperatura de 55 – 60⁰C se constată o diminuare a numărului celulelor bacteriene.

În toate situațiile, vinuri albe și roșii, indiferent de concentrația alcoolică, menținerea lor la temperatura de 60 – 65⁰C timp de 2 la 10 minute celulele bacteriilor acetice sunt inactivate;

32. Din studiile efectuate reiese în evidență faptul că bacteriile acetice fac parte integrantă din microflora prezentă pe struguri, în must și vin.

Cunoașterea factorilor care decid procesele lor vital – metabolice, ne dau șansa să luăm măsuri eficiente pentru ca aceste procese să nu se desfășoare, asigurând în acest fel vinuri de calitate superioară, cu conținuturi minime de acid acetic provenit dacă se poate numai ca urmare a desfășurării fermentației alcoolice a zaharurilor prezente în must.