

Kvasničná flóra z hľadiska biologickej stability mladých vín

ERICH MINÁRIK, Výskumný ústav pre vinohradníctvo a vinárstvo, Bratislava

663.258:5768

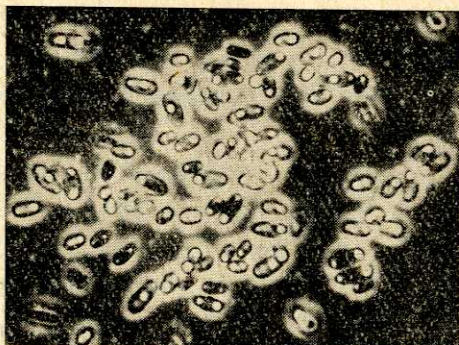
Jedným z problémov vo vinárstve je biologická stabilita a trvanlivosť vinárskych výrobkov. V modernej veľkovýrobe máme veľký záujem na tom, aby mladé vína boli čo najskôr biologicky vyrovnané, pri čom však usilujeme o včasné zabrzdenie činnosti škodlivých druhov kvasiniek, a naopak, snažíme sa stimulovať tie druhy, ktoré sú z hľadiska kvasenia želateľné.

V hotovom výrobku sa vyskytujúce druhy kvasiniek sú škodlivé a preto neželateľné. Aby sa mohli zavádzať čo najúčinnšie preventívne opatrenia proti škodlivej činnosti niektorých kvasiniek (kvasničné zákaly, dodatočné kvasenie vín so zvyškovým cukrom, choroby vyvolávané kožkotvornými kvasinkami), je potrebné, aby sme poznali jednotlivé druhy kvasiniek, ich výskyt a zastúpenie v našich vínach. Nakoľko aktivita kvasiniek je najintenzívnejšia v mladých vínach do druhého stočenia, obrátili sme našu pozornosť predovšetkým na ne. Zloženie kvasničnej flóry vín sme sledovali v malokarpatskej vinohradníckej oblasti, ktorú možno označiť ako rozsahom najväčšiu v ČSR.

Zloženie kvasničnej flóry mladých vín

Celkove sme vyšetrili 41 bielych a červených vín, ktoré pochádzali z vinárskych závodov, JRD a iných inštitúcií v najväčších obciach oblasti. Vzorky sa brali len z vín, ktorých mušty boli spontánne kvasené. Vína kvasené čistou kultúrou kvasiniek boli z priezkumu vylúčené. Všetky analyzované vína boli po prvom, resp. tesne po druhom stočení z kalov. Niekoľko málo vín bolo pred prvým stočením. Z každej vzorky vína sa izolovalo priemerne 4 až 5 čistých kultúr kvasiniek obvyklou technikou. Kvasinky boli izolované do 24 hodín po odobraní vzorky. Izolované kvasinky boli uložené na šikmom sladinkovom agare, ktorý sa zalieval po rozrástnutí kultúr sterilným parafínovým olejom.

Identifikačné testy sa robili podľa metód uvádzaných Kudriavcevom [1], Lodderovou a Kreger van Rijovou [2], Wickerhamom [3] a Kockovou-Kratochvílovou [4]. Najdôležitejšie testy, schopnosť asimilovať a skvasovať diagnostické cukry, sme vyhodnocovali objektívnou chromatografickou metódou [5, 6, 7].



Obr. 1



Obr. 2

Kožkotvorné kvasinky izolované z vín

Obr. 1. *Candida mycoderma*, 3 dni staré bunky v hroznovom mušte — Obr. 2. *Candida zeylanoides*, 3 dni staré bunky v hroznovom mušte.

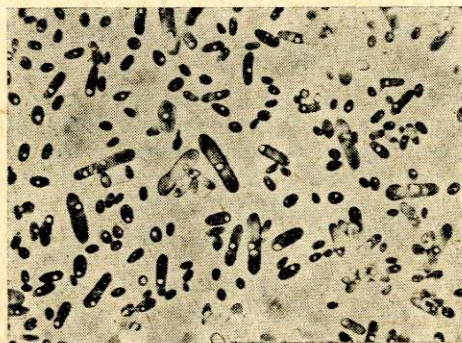
Prehľad kvasiniek izolovaných z vín

Druh	Počet kmeňov	Percento zastúpenia	Výskyt v percentoch vín
Spórigené kvasinky	114	63,7	82,9
<i>Saccharomyces vini</i>	44	24,6	43,9
<i>Saccharomyces oviformis</i>	59	33,0	48,8
<i>Saccharomyces bayanus</i>	3	1,7	7,3
<i>Saccharomyces willianus</i>	1	0,5	2,4
<i>Saccharomyces steineri</i>	1	0,5	2,4
<i>Pichia membranaefaciens</i>	5	2,8	7,3
<i>Hansenula anomala</i>	1	0,5	2,4
Aspórigené kvasinky	65	36,3	46,3
<i>Candida mycoderma</i>	59	33,0	46,3
<i>Candida zeylanoides</i>	6	3,3	7,3

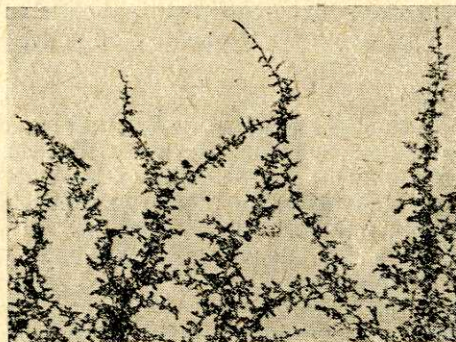
Vo vínach sme našli kvasinky patriace do 4 rodov, z toho 3 spórigené (*Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*) a 1 nespórigený (*Candida*). K dominantnej zložke kvasničnej flóry vín patrili predovšetkým *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces vini* zo sporulujúcich kvasiniek a *Candida mycoderma* z kvasinkovitých mikroorganizmov (tab. 1).

Je zaujímavé, že sa vo vínach vyskytuje pomerne málo druhov kvasiniek v porovnaní s pestrú paletou druhov vyskytujúcich sa na hroznových bobuliach a v muštoch. Dovedna sa našlo len 7 spórigených druhov, z toho 5 druhov *Saccharomyces*, po 1 druhu *Pichia* a *Hansenula*, a 2 aspórigené druhy rodu *Candida*. Úzky sortiment kvasiniek vo víne svedčí o prirodzenej selekcii kvasiniek počas alkoholického kvasenia muštu, a najmä po dokvasení vín. Markantne to vidieť pri druhoch rodu *Saccharomyces*. Na hroznách a v muštoch možno v tej istej oblasti identifikovať viac ako 15 rôznych druhov, vo vínach len jednu tretinu. Niektoré druhy, ktoré sú bežne zastúpené na viniči alebo v muštoch, vo víne nemožno dokázať. Napr. kvasinky *Torulaspora rosei* sa vyskytujú často v muštoch čerstvých alebo slabokvasiacich. Vo vínach sme ich ani raz nenašli. Obdobné je to s kvasinkami rodu *Kloeckera* a *Torulopsis*. Je zrejme, že týmto kvasinkám nevyhovuje vyšší obsah alkoholu vína, prípadne aj iné metabolity.

Pozoruhodné je aj zastúpenie a výskyt jednotli-



Obr. 3



Obr. 4

Kožkotvorné kvasinky izolované z vín

Obr. 3. *Pichia membranaefaciens*, 3 dni staré bunky v hroznovom mošte — Obr. 4. *Hansenula anomala*, pseudomycélium na zemiakovom agare, 4 dni stará sklíčková kultúra.

vých druhov kvasiniek. Početne najsilnejšie sú zastúpené *Saccharomyces oviformis* a *Candida mycoderma*, ktoré predstavujú spolu 66 % všetkých kvasiniek a *Saccharomyces vini*, ktorých je 24,6 %. Ostatné druhy reprezentujú dovedna necelých 9 % všetkých kvasiniek. Vysoké je zastúpenie kožkotvorných kvasiniek (*Pichia*, *Hansenula*, *Candida*), ktoré spolu reprezentujú 39,9 % všetkých kvasiniek. Obdobný je aj obraz výskytu jednotlivých druhov po vínach, pri čom je opäť nápadné vysoké percento výskytu *Candida mycoderma*, ktoré sú prítomné v 46,3 % všetkých vín (obr. 1 až 4).

Kožkotvorné kandidy (*Candida mycoderma* a *Candida zeylanoides*) s aeróbnym charakterom vývinu bez fermentatívnej schopnosti sa vyskytujú veľmi často v mladých vínach do druhého stočenia, často vo forme kožky (miazdry) na povrchu vín, ktoré ochoreli na birzu. V muštoch a na hroznách sa takmer nevyskytujú. Diametrálne sa od nich líšia kvasinky *Candida pulcherrima*, ktoré sa v mušte vyvíjajú anaeróbne a ktoré sú schopné kvasiť glukózu a fruktózu. Tieto kvasinky sú často iniciátormi alkoholického kvasenia muštov v spoľčenstve s *Kloeckera apiculata*, *Torulaspora rosei* a *Saccharomyces vini*, prípadne aj inými kvasinkami. Vo vínach sa však nikdy neobjavujú, nakoľko sú málo odolné voči alkoholu.

Dominantné druhy kvasiniek a biologická stabilita mladých vín

Kvasinky *Saccharomyces oviformis*, ktoré predstavujú 1/3 všetkých kvasiniek identifikovaných vo víne, sa vyznačujú neobvyčajne veľkou aktivitou, najmä vysokou odolnosťou voči alkoholu a prispôbivosťou k vyššej koncentrácii cukru vďaka relatívne veľkému povrchu dosť malých guľatých až mierne oválnych buniek (8). Tento druh kvasiniek je v mnohých prípadoch zodpovedný za dokvášanie a za vykvasenie posledných zvyškov cukru vo vínach. *Saccharomyces oviformis* je často iniciátorom dodatočného kvasenia vín so zvyškom cukru. Známe „jarné“ dokvášanie vín spôsobujú najčastejšie práve tieto kvasinky. Aj refermentáciu prírodne sladkých vín, t. j. výberov a samorodných vín možno často pripísať *Saccharomyces oviformis*. Veľmi nepríjemné sú refermentácie fľaškových vín. Nie sú zriedkavé prípady, kedy sa rozkvasia aj vína so 14,5 až 15,0, v ojedinelých prípadoch aj so 16 obj. % alkoholu, ak obsahujú zvyškový cukor a neboli stabilizované.

K podstatnejšiemu rozmnožovaniu *Saccharomyces oviformis* dochádza až po búrlivom kvasení, zvyčajne až pri dokvášaní, kedy je aktivita ostatných druhov kvasiniek menej odolných voči alkoholu inhibovaná, napr. *Sacch. vini*, alebo úplne znemožnená, napr. *Kloeckera apiculata*, *Torulaspora rosei* atď. Kvasinky *Saccharomyces oviformis* možno preto považovať za dokvášajúce, ktorých činnosť je vítaná pre suché stolové, komerčné i kvalitné vína. Naopak, pre vína prírodne sladké, napr. tokajské výbery, samorodné sladké a všeobecne pre vína, v ktorých chceme uchovať malý zvyšok cukru, sú škodlivé, ba po fľaškovani aj nebezpečné (známe „strietanie“ fliaš).

Máme teda záujem zachovávať a stimulovať činnosť *Saccharomyces oviformis* vtedy, keď sa má všetok cukor, alebo čo najväčšia časť cukru muštu vykvasiť, napr. pri výrobe vysokoalkoholických základných vín určených pre výrobu prírodných dezertov (9, 10), alebo suchých vín. Účinným zásahom v týchto prípadoch je zakvášanie muštu dostatočne silným zákvasom niektorého osvedčeného kmeňa *Saccharomyces oviformis* a prípadne dlhšie ponechanie vína na kvasniciach, ak je dostatočne kyslé. V žiadnom prípade sa nemajú vína siriť, kým sú na kvasniciach a majú zvyškový cukor, nakoľko *Saccharomyces oviformis* sú zvyčajne dosť citlivé na kyslíčnik siričitý, kým kožkotvorné *Candida mycoderma* obvyklé dávky SO₂ znášajú pomerne dobre.

Pochopiteľne vína, u ktorých sa požaduje, aby im zostal malý zvyšok cukru, majú mať čo najmenej buniek *Saccharomyces oviformis*. Preto mušty zakvasujeme niektorým aktívnym kmeňom *Saccharomyces vini*, alebo zmesnou kultúrou, v ktorej nie je zastúpený *Saccharomyces oviformis*, alebo sa mušty kvasia spontánne, ak ide o menšie partie a keď sú fermentačné podmienky priaznivé. Doporučuje sa stredne silné sírenie muštu tak, aby hladina SO₂ neklesla pod 35 až 40 mg/l celkového SO₂. S výhodou sa nasladlé a sladké vína sterilne fľaškujú po predchádzajúcej EK-filtrácii. Doporučuje sa chladné skladovanie týchto vín.

Treba ovšem pripomenúť, že v niektorých prípadoch možu dodatočné kvasenie vyvolávať aj iné druhy kvasiniek. V našich podmienkach to môže byť napr. *Saccharomyces vini*, prípadne aj iný druh. Podľa Domercqovej (11) spôsobujú refermentáciu sladkých vín vo Francii okrem *Saccharomyces oviformis* aj *Saccharomyces acidifaciens* a

Saccharomyces chevalieri. Iní autori [12] našli v juhoafrických vínach, ktoré podliehali dodatočnému kvaseniu vo fľašiach, v 80 % kvasinky rodu *Brettanomyces*, v 20 % *Saccharomyces oviformis*, v 18 % *Saccharomyces acidifaciens* atď.

Ako sme už spomenuli, vyskytujú sa *Candida mycoderma* najčastejšie vo vínach do druhého stočenia z kvasníc, predovšetkým v mladých vínach pred prvým stáčaním a po ňom. Vo vínach s hladinou alkoholu nad 12,5 obj. % a vo vínach po druhom stočení sú zriedkavejšie. Vzhľadom na aeróbný charakter vývinu *Candida mycoderma* treba vína úzkostlivo chrániť pred vzdušným kyslíkom, čo možno zabezpečovať stálou dolievkou vín, ktoré sa majú skladovať vo väčších sudoch, s relatívne menším povrchom. Samotné šírenie nezaručuje dostatočnú ochranu voči kožkotvorným kvasinkám, resp. ochoreniu birzou, pretože *Candida mycoderma*, ktoré toto ochorenie najčastejšie vyvolávajú, sa dobre vyvíjajú aj pri zníženej hladine rH [13].

Vzhľadom na minimálny výskyt *Candida mycoderma* na hroznách a v muštoch a na veľmi silné zastúpenie v mladých vínach, je oprávnená domnienka, že sa tieto kvasinky dostávajú do vín infekciou z nedokonale vyčistených sudov, z pivničného náradia, zo stien pivníc, príp. aj zo vzduchu. Preto je zvýšená starostlivosť o pivničnú hygienu základnou požiadavkou v boji proti chorobám vyvolaným kvasinkovitými mikroorganizmami.

I keď štúdium kvasničnej flóry vín nemožno považovať zďaleka za uzavreté, nakoľko bude potrebné v budúcnosti systematicky sledovať zloženie kvasničnej flóry vo vínach rôzneho veku a proveniencie, možno už teraz usudzovať, že biologická stabilita mladých vín je z veľkej miery závislá od aktivity kvasiniek, a to hlavne od dominantne vystupujúcich druhov. Cieľavedomými zásahmi počas výroby vína možno usmerňovať vývin týchto kvasiniek v želanom smere. Týmto otázkam sa tre-

ba naďalej venovať, ak máme v budúcnosti vyrábať len stabilné a vyrovnané vína.

Súhrn

Bol urobený mikrobiologický prieskum mladých slovenských vín malokarpatskej proveniencie. Zistilo sa, že kvasinky *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces vini* a *Candida mycoderma* tvoria podstatnú časť kvasničnej flóry týchto vín. Silný výskyt *Candida mycoderma* možno zaznamenať vo vínach pred prvým a po prvom stočení vín z kalov. Tieto kvasinky, ktoré sú zodpovedné za birzovatenie vín, sa našli v 46,3 % všetkých skúšaných vín. Zastúpenie kožkotvorných kvasiniek (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula*) vo vínach je značné a činí takmer 40 % všetkých izolovaných kvasiniek. Zo spórigených kvasiniek je najsilnejšie zastúpený druh *Saccharomyces oviformis*, ktorý sa našiel v 48,8 % vín. Sú to typické dokvášajúce kvasinky.

Poukazuje sa na niektoré technologické dôsledky vyplývajúce zo zastúpenia jednotlivých a predovšetkým dominantných druhov kvasiniek v mladých vínach. Zdôrazňuje sa význam ďalšieho štúdia kvasničnej flóry vín rôzneho veku a proveniencie.

Literatura

- [1] Kudriavcev V. I.: Sistematika drožžej. Moskva 1954
- [2] Lodder J., Kreger van Rij N. J. W.: The Yeasts, a taxonomic study. Amsterdam 1952
- [3] Wickerham L. J.: Taxonomy of Yeasts. U. S. Department of Agriculture, Technical Bulletin No. 1029, Washington 1951
- [4] Kocková-Kratochvílová A.: Kvasinky. Bratislava 1957
- [5] Minárik E., Laho L., Navara A.: Poľnohospodárstvo 6, 15 (1959)
- [6] Minárik E., Laho L., Navara A.: Biológia 14, 597 (1959)
- [7] Laho L., Minárik E., Navara A.: Biológia 13, 910 (1958)
- [8] Minárik E.: Biológia 11, 21 (1956)
- [9] Minárik E., Laho L.: Kvasný priemysl 2, 272 (1956)
- [10] Minárik E.: Kvasný priemysl 5, 170 (1959)
- [11] Domereq S.: Etudes et classification des levures de la Gironde. Dizert. práce, Bordeaux 1956
- [12] van der Walt J. P., van Kerken A. E., Anthony van Leeuwenhoek: Journal of Microbiology and Serology 24, 239 (1958)
- [13] Schanderl H.: Die Mikrobiologie des Weines. Stuttgart 1950

Došlo do redakcie 16. 12. 1959.

ДРОЖЖЕВАЯ ФЛОРА С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МОЛОДОГО ВИНА

В статье приводятся результаты микробиологического исследования молодых словацких вин из Малокарпатской области. Было установлено, что основную часть дрожжевой флоры этих вин представляют дрожжи семейства *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces vini* и *Candida mycoderma*. В значительных количествах были обнаружены оболочкообразующие дрожжи (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula*), доля которых достигала 40 % из всех изолированных дрожжей. Из спороносных дрожжей наиболее распространенным видом являются дрожжи семейства *Saccharomyces oviformis*, встречающиеся в 48,8 % из всех анализированных вин.

В статье приводятся некоторые заключения технологического характера, вытекающие из состава флоры и долей ее отдельных составляющих, главным образом имеющих решающее значение. Подчеркивается необходимость дальнейшего изучения дрожжевой флоры в винах разного происхождения и возраста.

DIE HEFEFLORA VOM STANDPUNKT DER BIOLOGISCHEN STABILITÄT VON JUNGWEINEN

Slowakische Jungweine kleinkarpatischer Herkunft wurden einer mikrobiologischen Untersuchung hinsichtlich der Zusammensetzung ihrer Hefe flora unterzogen. Es konnte festgestellt werden, dass die Hefen *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces vini* und *Candida mycoderma* einen wesentlichen Bestandteil dieser Flora bilden. Der Anteil von allen Kahlhefen (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula*) betrug 40 % der gesamten isolierten Hefen und kann daher als sehr hoch bezeichnet werden. Die zu den sporogenen Hefen gehörenden *Saccharomyces oviformis* sind mit einer 48,8 % Frequenz in den Jungweinen zu der am häufigsten vorkommenden Hefeart zu zählen.

Es wird auf technologische Folgerungen, die sich aus der Vertretung der einzelnen, besonders aber der dominanten Hefearten im Jungwein ergeben, hingewiesen. Die Bedeutung einer weiteren Untersuchung der Hefe flora von Weinen verschiedenen Alters und Provenienz wird unterstrichen.

THE YEAST FLORA FROM THE STANDPOINT OF BIOLOGICAL STABILITY OF YOUNG WINES

Several Slovak young wines originating from the wine-district of Malé Karpaty were examined for the composition of their yeast flora. It could be established that the yeasts *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces vini* and *Candida mycoderma* belong to the predominant constituent of this flora. The portion of all film yeasts (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula*) found in wines, is with 40 % of all isolated yeasts to be regarded as very high. *Saccharomyces oviformis* may be counted as the most widespread yeast species and was found in 48,8 % of wines.

Technological inferences resulting from the composition of individual and especially of predominant yeast species in young wines are discussed. The importance of further examinations of yeasts in wines of various age and origine is underlined.