

Príspevok k taxonomickej príslušnosti niektorých vinárskych kvasiniek a príbuzných druhov

ERICH MINÁRIK, Výskumný ústav vinohradnícky a vinársky, Bratislava a

ANNA KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, ČSAV — Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, Bratislava

663.252.41

Vínárske kvasinky označované Lodderovou *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* [1], podľa Kudriavceva *Saccharomyces vini* [2], zaraďujeme podľa schopnosti skvasovať maltózu a sacharózu do 2. kvasného typu rodu *Saccharomyces* [3]. 2. Kvasný typ zahŕňa početné druhy, ktoré sa rozlišujú podľa schopnosti skvasovať galaktózu a rafinózu, ako vidieť z tabuľky 1.

Pri typizácii druhu *Saccharomyces cerevisiae* a príbuzných druhov sa okrem bežných identifikačných znakov používajú podrobné morfológické, biochemické a sérologické vlastnosti, ako aj znaky, vyplývajúce z technologických podmienok kvasnej výroby. V tejto práci sa predkladá časť typizácie *Saccharomyces vini*, zaoberajúca sa schopnosťou niektorých príbuzných alebo synonymných druhov, ako aj niektorých vybraných typických kmeňov, zúčastňovať sa kvasenia hroznového muštu ako číste kultúry.

Použité kmene a metódy

Pracovalo sa s rôznymi morfortypmi *Saccharomyces vini* (malobunkový, veľkobunkový a stredný) a s 2 kmeňmi, ktoré so sérom typického zástupcu *Saccharomyces vini* (kmeň 28—103) neaglutinovali a ktoré možno označiť ako sérologicky negatívne. Podobne sa použili rôzne morfortypy *Saccharomyces oviformis*, ako aj kmene, ktoré galaktózu skvasovali po dlhšej adaptačnej dobe (prechodné kmene medzi *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces vini*). Na porovnanie sa k pokusom priblížili synonymné druhy (napr. *Saccharomyces ellipsoideus* var. *umbra*, *Saccharomyces ellipsoideus* var. *major*, ako aj druhy *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces willianus*, *Saccharomyces veronae*, *Saccharomyces steineri* a *Saccharomyces heterogenicus*). Prehľad použitých kmeňov je v tabuľke 2.

Kmene *Saccharomyces vini* sa vybrali z celkového počtu 140 kmeňov, pokiaľ vykazovali fyziologickú a biochemickú charakteristiku druhu. Typizácia sa robila na základe veľkosti buniek, dĺžky

Tabuľka 1

Gal — raf —	Gal + raf —	Gal — raf 1/3—2/3	Gal + raf 1/3	Gal + raf 3/3
<i>Sacch.</i> <i>heterogenicus</i>	<i>Sacch.</i> <i>steineri</i>	<i>Sacch.</i> <i>pastorianus</i> <i>Sacch.</i> <i>bayanus</i> <i>Sacch.</i> <i>oviformis</i>	<i>Sacch.</i> <i>willianus</i> <i>Sacch.</i> * <i>vini</i> <i>Sacch.</i> <i>cerevisiae</i>	<i>Sacch.</i> <i>logos</i> <i>Sacch.</i> <i>uvorum</i> <i>Sacch.</i> <i>carlsbergensis</i>
		<i>Sacch.</i> <i>veronae</i>	<i>Sacch.</i> <i>diastaticus</i>	

Tabuľka 2

Druh	Kmeň	Poznámka
<i>Sacch. vini</i>	28-3	malobunkový morfortyp
	28-103	stredný morfortyp
	28-93	veľkobunkový morfortyp
	28-100	sérologicky negatívne
	28-35	
<i>Sacch. oviformis</i>	21-21-6	malobunkový morfortyp
	21-21-17	stredný morfortyp
	21-21-9	veľkobunkový morfortyp
	28-25	prechodné kmene medzi
	28-67	
	28-71	<i>Sacch. oviformis</i> a <i>Sacch. vini</i>
Synonymné druhy		
„Johannisberg“	21-4-6	
<i>Sacch. ellips. var. umbra</i>	21-37-1	
<i>Sacch. ellips. var. major</i>	21-37-2	
<i>Sacch. yedo</i>	21-8-1	
<i>Sacch. tokyo</i>	21-10-1	
<i>Sacch. batatae</i>	21-16-1	
<i>Sacch. odessa</i>	21-28-1	
<i>Sacch. cerevisiae</i>	21-4-13	rasa XII
<i>Sacch. paradoxus</i>	21-17-1	
<i>Sacch. turbidans</i>	21-4-9	
<i>Sacch. cartilaginosus</i>	21-14-1	
Porovnávajúce druhy		
<i>Sacch. carlsbergensis</i>	48-54	veľkobunkový morfortyp
<i>Sacch. cerevisiae</i>	21-4-17	
<i>Sacch. willianus</i>	21-15-2	
<i>Sacch. pastorianus</i>	21-6-1	
<i>Sacch. bayanus</i>	21-6-3	
<i>Sacch. veronae</i>	21-34-1	
<i>Sacch. steineri</i>	21-30-1	
<i>Sacch. heterogenicus</i>	21-31-2	

širokového pomeru buniek, korelačných koeficientov šírky a dĺžky buniek, podľa vypočítaných pomerov povrch/objem bunky, tvorby pseudomycélia, ozmofility, odolnosti voči alkoholu, etylénglykolu a glycerolu, podľa sérologickej charakteristiky a ďalších ukazovateľov. Podľa počtu výskytu zastúpenia jednotlivých vlastností 121 hodnotených kmeňov sa vypočítal tzv. hypotetický priemer [4, 5, 6].

Hypotetický priemerný typ *Saccharomyces vini* /Muntz/Kudriavcev sa vyznačuje:

1. Stredne oválnymi bunkami s dĺžko-širokovým pomerom 1,1 až 1,2.
2. Kvocientom povrch/objem > 1.
3. Korelačným koeficientom dĺžky a šírky medzi 0,40 až 0,75.

4. Stromčekovitým pseudomycéliom na cibulovom agare.
5. Hladkými obrovskými kolóniami na sladinkovom agare.
6. Dobrou ozmoфіliou.
7. Schopnosťou asimilovať trehalózu, celobiózu, manit, dulcitol a inulín, neschopnosťou využívať lyzín.
8. Schopnosťou asimilovať glycerol a etanol.
9. Schopnosťou sporulovať.

Kvasné skúšky s uvedenými druhmi a kmeňmi kvasiniek sa robili v mokrolaboratórnom merítke s hroznovým muštom Veltlínske zelené roč. 1964 s upravenou cukrnatosťou (21,5° Klost.), 8,2 g/l titrovateľných kyselín a pH 3,15. Čerstvý od lisu tečúci mušt bol po pricukrení a zasírení na 25 mg/l SO₂ naplnený do 5litrových kvasných fliaš a zakvasený 3,7 % 4-dňovej kultúry skúšaných kvasiniek. Ako kontrola slúžil spontánne kvasiaci, nezakvasený mušt. Flaše sa uzatvorili vatovými uzávermi a ponechali pri teplote 14 až 15 °C v pivnici VÚVV. Priebeh kvasenia sa sledoval denným meraním úbytku cukrnatosti (refraktometricky) a teploty kvasiaceho muštu. Kvasenie prebehlo pomerne rýchle a skončilo podľa použitého druhu (kmeňa) kvasiniek medzi 10. až 14. dňom. V 14. deň sa všetky vína doplnili spontánne skvaseným

muštom (asi 10 % objemu kvasnej fliaše). Po 30 dňoch sa vína stočili z kvasníc. Po 60 dňoch sa previedol chemický rozbor vín, po 90 dňoch organoleptické zhodnotenie.

Výsledky a zhodnotenie

Rýchlosť kvasenia muštu nebola u jednotlivých kmeňov a druhov rovnaká. Najrýchlejší priebeh kvasenia vykazovali kmene 28—71, 21—37—1, 21—37—2 a 28—10, teda prechodné kmene medzi *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces vini*, synonymné kmene *Saccharomyces ellipsoideus* var. *umbra* a var. *major* a kmene *Saccharomyces vini* a *Saccharomyces odessa*. Najpomalšie kvasili kmene 21—30—1 (*Saccharomyces steineri*), 21—31—2 (*Saccharomyces heterogenicus*) a 21—13—1 (*Saccharomyces batatae*). Ostatné kmene vykazovali priemernú fermentačnú rýchlosť.

Pokiaľ ide o hĺbku skvasovaného cukru, najviac alkoholu vytvorili kmene *Saccharomyces vini*, *Saccharomyces cerevisiae*, rasa XII, prechodný kmeň k *Saccharomyces oviformis* a i. (13,51—13,77 obj. %). Najnižšia produkcia alkoholu sa zaznamenala pri *Saccharomyces turbidans* a *Saccharomyces heterogenicus* (12,55 resp. 12,9 obj. %). Aj v produkcii prchavých kyselín boli určité rozdiely. Niektoré kmene *Saccharomyces vini* vytvorili iba 0,22

Tabuľka 3

K m e ň		Špec. váha 20/20°	Alkohol obj. %	g/l								
				Extr. celk.	Cukor	Extr. bez cukru	Titr. kys.	Prch. kys.	Neprch. kys.	Extrakt. zvyšok	Popol	Počet bodov
	Kontrola	0,9906	13,25	20,1	0,9	19,2	6,7	0,27	6,4	12,8	1,3	17,7
Sacch. vini	28-3	0,9905	13,51	20,3	0,8	19,5	6,5	0,56	5,8	13,7	1,3	17,2
	28-103	0,9906	13,77	21,9	0,4	21,5	7,0	0,32	6,6	14,9	1,5	17,0
	28-93	0,9906	13,51	20,9	1,1	19,8	6,6	0,25	6,3	13,5	1,6	17,8
	28-100	0,9906	13,51	21,1	1,0	20,1	6,4	0,42	5,9	14,2	1,7	17,3
	28-35	0,9904	13,51	20,3	1,0	19,3	6,4	0,68	5,6	13,7	1,7	17,4
Prech. kmene	28-25	0,9906	13,43	20,3	1,2	19,1	6,6	0,67	5,8	13,3	1,6	17,1
	28-67	0,9906	13,51	21,4	1,0	20,4	6,7	0,31	6,3	14,1	1,3	17,0
	28-71	0,9912	13,43	21,9	1,1	20,8	6,6	0,52	6,0	14,8	2,0	15,3
Sacch. oviformis	21-21-6	0,9909	13,34	21,1	0,6	20,5	6,9	0,73	6,0	14,5	1,6	16,6
	21-21-17	0,9908	13,43	21,4	1,1	20,3	6,7	0,45	6,2	14,1	1,2	17,4
	21-21-9	0,9908	13,43	20,9	1,2	19,7	6,7	0,52	6,1	13,6	0,9	17,7
Synonymné druhy	21-4-6	0,9908	13,16	21,1	0,9	20,2	6,7	0,31	6,3	13,9	1,5	17,6
	21-37-1	0,9907	13,34	21,1	1,0	20,1	6,6	0,31	6,2	13,9	2,0	17,5
	21-37-2	0,9912	13,34	21,9	0,2	21,7	7,2	0,22	6,9	14,8	1,8	17,9
	21-8-1	0,9908	13,16	21,1	1,2	19,9	6,6	0,30	6,2	13,7	1,6	17,5
	21-10-1	0,9908	13,51	21,1	1,0	20,1	6,4	0,34	6,0	14,1	1,0	17,7
	21-16-1	0,9908	13,43	20,9	1,1	19,8	6,4	0,39	5,9	13,9	1,7	17,9
	21-28-1	0,9902	13,34	20,1	0,1	20,0	6,7	0,42	6,2	13,8	1,8	17,7
	21-4-13	0,9907	13,51	21,1	1,0	20,1	6,6	0,58	5,9	14,2	2,0	17,9
	21-17-1	0,9907	13,34	20,3	1,1	19,2	6,4	0,33	6,0	13,2	1,2	17,7
	21-4-9	0,9906	12,55	19,0	0,9	18,1	6,7	0,78	5,7	12,4	1,6	17,8
	21-14-1	0,9913	13,16	21,6	1,0	20,6	7,0	0,36	6,5	14,1	2,2	vylúč.
	Porovnávajúce druhy	48-54	0,9907	13,34	21,1	1,1	20,0	6,7	0,27	6,4	13,6	1,6
21-4-17		0,9907	13,51	20,9	1,1	19,8	6,9	0,39	6,4	13,4	1,5	17,4
21-15-2		0,9905	13,51	21,9	1,8	20,1	6,6	0,33	6,2	13,9	1,6	17,6
21-6-3		0,9907	13,43	21,1	0,9	20,2	6,9	0,30	6,5	13,7	1,5	17,7
21-6-1		0,9907	13,16	21,1	0,9	20,2	6,7	0,31	6,3	13,9	1,5	17,8
21-34-1		0,9909	13,34	21,1	1,0	20,1	7,1	0,27	6,8	13,3	1,7	18,0
21-30-1		0,9907	13,25	20,9	0,7	20,2	6,5	0,36	6,0	14,2	1,3	17,7
21-31-2		0,9906	12,90	20,1	1,1	19,0	6,7	0,27	6,4	12,6	1,3	17,5

až 0,25 g/l, *Saccharomyces turbidans* až 0,78 g/l prchavých kyselín. Najvyšší obsah popola vykazovali vína skvasené *Saccharomyces cartilaginosus*, *Saccharomyces ellipsoideus* var. *umbra*, *Saccharomyces cerevisiae* atď. Ostatné zložky pokusných vín nevykazovali väčšie rozdiely. Organoleptické skúšky ukázali, že až na niekoľko výnimiek, boli všetky vína vyrovnané, v chuti a voni skoro identické. Prehľad chemického zloženia a organoleptického hodnotenia vín je v tabuľke 3.

Na rozdiel od iných odvetví kvasného priemyslu, najmä pivovarníctva a drožďarstva, kde záleží nielen na použitom druhu, ale aj na kmeni, je rozsah využiteľnosti rôznych kmeňov *Saccharomyces vini* a príbuzných druhov podstatne širšia. Ukázalo sa, že aj vzácne sa vyskytujúce druhy, napr. *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces veronae* a i. vykazovali hladký priebeh kvasenia podobný *Saccharomyces vini*. Podobné vlastnosti vykazovali aj príbuzné druhy *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces cerevisiae* a ďalšie. Dobrý priebeh fermentácie sa zaznamenal aj pri *Saccharomyces oviformis*, kým u 3 paralelných kmeňoch, tvoriacich prechod medzi *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces vini*, bolo badať určité výkyvy a aj variabilita týchto kmeňov bola pomerne značná. Veľmi dobrý priebeh kvasenia sa všeobecne zaznamenal u veľkobunkových morfotypoch.

Organoleptické posúdenie potvrdilo širokú upotrebitelnosť rôznych kmeňov *Saccharomyces vini* a príbuzných druhov pri výrobe vín. Len ojedinelé vína boli hodnotené nižšie ako 17 bodmi z 20 možných. Je iste zaujímavé, že najvyššie ocenenie si odnieslo víno kvasené *Saccharomyces veronae* (18 bodov), kým víno kvasené *Saccharomyces cartilaginosus* bolo pre cudziu príchuť ako aj vyšší obsah prchavých kyselín z hodnotenia vylúčené. Treba uviesť, že posledný druh sa neosvedčil, s výnimkou kvasenia cesta, ani pri iných kvasných výrobách.

Výsledky porovnávajúcich vyšetrení rôznych kmeňov *Saccharomyces vini* a príbuzných druhov pri kvasení hroznového muštu dokázali, že použiteľnosť druhov 2. kvasného typu (malt+, sach+) je pri výrobe vína oveľa širšia ako v iných odvetviach

kvasného priemyslu a preto nemôže byť technologická použiteľnosť kmeňa použitá ako taxonomické kritérium pri hodnotení špecifity druhu. Možnosť použitia a výberu vinárskych kvasiniek a príbuzných druhov je pri výrobe vína veľmi veľká, čo ostro kontrastuje s inak blízkou výrobou piva, kde je použitie aj najbližších druhov (*Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae*) vylúčené a kde sa často aj mnohé kmene *Saccharomyces carlsbergensis* neosvedčujú. Treba uviesť, že *Saccharomyces carlsbergensis*, na rozdiel od *Saccharomyces vini*, sa vyformoval technologickými podmienkami výroby piva. Širšie uplatnenie príbuzných i menej príbuzných druhov *Saccharomyces vini* pri výrobe vína možno v praxi dokázať pri spontánnom kvasení, ktorého sa zúčastňuje pomerne veľmi široká paleta druhov rodu *Saccharomyces* [7, 8].

Súhrn

V rámci typizácie *Saccharomyces cerevisiae* a najbližších druhov bola vyskúšaná možnosť využívať technologickú upotrebitelnosť rôznych kmeňov *Saccharomyces vini* a príbuzných druhov pri kvasení muštu ako taxonomické kritérium pri určovaní druhu. Na rozdiel od iných odvetví kvasnej výroby je spektrum druhov a kmeňov, využitelných pri výrobe vína, podstatne širšie, dôsledkom čoho technologická vhodnosť kvasiniek pri kvasení muštu nie je dostačujúcim taxonomickým znakom pri hodnotení špecifity druhu.

Literatúra

- [1] Lodder, J.-Kreger van Rij, N. J. W.: The Yeasts, a Taxonomic Study, North Holland Publishing Company, Amsterdam 1952.
- [2] Kudriavcev, V. I.: Sistematika drožžej. Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva 1954.
- [3] Kocková-Kratochvilová, A.-Vojtková-Lepšíková, A.-Fišerová, M.: Die Bedeutung der Gärtypen bei der Bestimmung der Hefen und hefeartigen Mikroorganismen. = „Brauwissenschaft“, 14, 1961: 210.
- [4] Kocková-Kratochvilová, A.-Pokorná, M.-Šandula, J.: Rod *Saccharomyces* (Meyen/Rees I. skupina druhov II. kvasného typu skvasujúcich celkom rafinózu. = „Folia microbiologica“, 9, 1966 (v tlači).
- [5] Kocková-Kratochvilová, A.-Vojtková-Lepšíková, A.-Šandula, J.-Pokorná, M.: Rod *Saccharomyces* (Meyen/Rees. II. Netypické kmene rodu *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen. = „Folia microbiologica“, 9, 1966 (v tlači).
- [6] Kocková-Kratochvilová, A.-Fišerová, M.: Rozdiel medzi *Saccharomyces cerevisiae* a jeho varietou *ellipsoideus*. = „Kvasný průmysl“, 10, 1964: 121.
- [7] Minárik, E.: Klasifikácia kvasničnej flóry malokarpatskej vinohradníckej oblasti. Biologické práce VII/6, SAV, Bratislava 1961.
- [8] Minárik, E.: Ekológia prírodných druhov vinných kvasiniek v Československu. Biologické práce, SAV, Bratislava (v tlači).

Došlo do redakcie 26. 7. 1965.

К ВОПРОСУ ТАКСОНОМИИ НЕКОТОРЫХ ВИННЫХ И СРОДСТВЕННЫХ С НИМИ ДРОЖЖЕЙ

В рамках типизации дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и некоторых родственных с ними видов проверялась возможность использовать технологические свойства разных штаммов *Saccharomyces vini* в качестве критерия для их классификации. Дрожжи изучались при сбраживании виноградного суслу. Виноделие отличается весьма существенно от других отраслей броидильной промышленности разнообразием и значительным количеством видов употребляемых дрожжей. Технологические свойства дрожжей не могут поэтому служить достаточно надежной базой в области их таксономии.

BEITRAG ZU DER TAXONOMISCHEN ZUGEHÖRIGKEIT EINIGER WEINHEFEN UND VERWANDTER ARTEN

Im Rahmen der Typisation der *Saccharomyces cerevisiae* und der nächstverwandten Arten wurde die Möglichkeit geprüft, als taxonomisches Kriterium bei der Artbestimmung die technologische Gebrauchstüchtigkeit der verschiedenen Stämme der *Saccharomyces vini* und der verwandten Arten bei der Mostvergärung zu verwenden. Zum Unterschied von anderen Gärungsweizen ist das Spektrum der bei der Weinfabrikation verwendbaren Arten und Stämme wesentlich breiter; deshalb kann die technologische Eignung der Hefen bei der Mostvergärung nicht als ein genügendes taxonomisches Merkmal bei der Bestimmung der Artspesifität angesehen werden.

TAXONOMY OF SOME WINE YEAST AND RELATED SPECIES

A series of tests has been carried out to find out, whether technological properties of various strains of *Saccharomyces vini* and related species can be used as a taxonomic criterion for their identification this being a part of taxonomic work aimed at the typification of *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentation of wine differs substantially from other branches of fermentation industry in having an extremely wide range of species and strains which can be successfully employed in fermenting processes and technologic properties of yeast provide therefore no reliable base for classification. The results of tests carried out with unfermented must confirm this conclusion.