

Vinařství

Kontaminující druhy kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov vína a ich vlastnosti

Doc. Ing. ERICH MINÁRIK, DrSc. a Ing. HELENA BACHOVÁ, Komplexný výskumný ústav vinohradnícky a vinársky, Bratislava

V slede ekologického výskumu vinných kvasiniek a kvasinkových organizmov druhotných stanovišť vo vinárskych prevádzkach sa študovala kvasinková flóra mladých sudových a fľašových vín v troch vinohradníckych oblastiach ČSSR. Ekologický výskum vín sa uskutočnil v malokarpatskej, podunajskej a nitrianskej oblasti v rokoch 1976—1979. Cieľom tohoto štúdia bolo určiť potenciálnych pôvodcov druhotného kvasenia a zákalov sudových (cisternových, tankových) a fľašových vín a posúdiť niektoré technologické vlastnosti vybraného súboru kmeňov a druhov kvasiniek vyskytujúcich sa dominantne alebo subdominantne v hroznových viniach ČSSR na základe dlhodobých štúdií (Minárik, 1978).

Materiál a metodika

Vyšetrovali sa mladé tzv. nízkoalkoholické vína (NAV) roč. 1976 vyrobené vo Vinárskych závodoch, o. p., prevádzke Komárno, mladé vína roč. 1979 malokarpatskej proveniencie z okolia Pezinka a obchodné značkové fľašové vína roč. 1978 z nitrianskej oblasti.

Odber vzoriek vína, izolácia, identifikácia a klasifikácia kvasiniek sa robila rutinnými metódami opísanými skôr (Minárik 1966) so zapojením membránovej filtrácie vína s nasledujúcou kultiváciou na membránach zachytených kvasničných buniek a s možnosťou stanovenia počtu živých kvasiniek. Metódy určenia niektorých technologických vlastností izolovaných kmeňov a zbierkových kultúr sme uviedli skôr (Minárik 1977).

Tab. 1. Kvasinková flóra mladých nízkoalkoholických vín pred a po prvom stočení

Víno roč. 1976	Celkový počet izolovaných kmeňov	Druh kvasiniek	Počet kmeňov izolovaných prvým stočením	Počet kmeňov izolovaných po prvom stočení
Müller-Thurgau	6	<i>S'codes ludwigii</i>	4	—
		<i>S. cerevisiae</i>	2	—
		<i>S. oviformis</i>	—	4
		<i>C. vini</i>	—	2
Ezerjó	6	<i>S'codes ludwigii</i>	3	—
		<i>S. cerevisiae</i>	1	—
		<i>S. oviformis</i>	2	3
		<i>C. vini</i>	—	3

Kvasinky mladých nízkoalkoholických vín

Vína s koncentráciou alkoholu < 10 obj. % vykazujú pred prvým stočením z kvasničných kalov charakteristickú mikrofóru. Vďaka obligátnych *Saccharomyces ce-*

Tab. 2. Kvasinková flóra mladých nízkoalkoholických vín po druhom stočení

Víno roč. 1976	Nádrž, z ktorej bolo víno odobrané	Celkový počet izolovaných kmeňov	Druh kvasiniek	Počet izolovaných kmeňov
Ezerjó I Ezerjó II	drevený sud cisterna	4	<i>Torulopsis</i> sp.	4
		2	<i>H. anomala</i> var. <i>anomala</i>	2
Müller-Thurgau	cisterna	6	<i>Torulopsis</i> sp.	4
			<i>Rh. rubra</i>	2

sevisiae a *S. oviformis* sa našli aj veľkobunkové apikulátne kvasinky *Saccharomycodes ludwigii*. Po prvom stočení z kalov a filtrácii kremelinovým naplavovacím filtrom sa však zmenil celkový obraz kvasinkovej flóry mladých NAV: kvasinky *S'codes ludwigii* sa už nenašli. Prevládali takmer výlučne druhy *S. cerevisiae* a *S. oviformis* vedľa kožkotvorných *Candida vini*, ako to je obvyklé u vín „normálnych“, t. j. s obsahom alkoholu > 10 obj. % (tabuľka 1).

Pozoruhodný výskyt *S'codes ludwigii* v mladých NAV súvisí zrejme s vyššou koncentráciou voľného SO₂ týchto vín (> 40—60 mg.l⁻¹) a s nižším obsahom alkoholu (8—9 obj. %). Je totiž známe, že kvasinky rodu *Saccharomycodes* tolerujú pomerne vysoké koncentrácie molekulárnej (nedisociovanej) H₂SO₃. Naopak, vo vínach s obsahom alkoholu > 10 obj. % sa tieto kvasinky takmer nevyskytujú. Napr. z niekoľkotisíc kmeňov kvasiniek izolovaných z rôznych vinárskych substrátov v ČSSR v rokoch 1955—1975 sa našiel iba jediný kmeň *S'codes ludwigii* (Minárik, Navara 1977). Väčšiu frekvenciu vo vínach a zastúpenie *S'codes ludwigii* možno preto s väčšou pravdepodobnosťou očakávať iba v silnejšie sfrených muštach a vínach, kedy dochádza k prirodzenej selekcii mikrofóry. Vzhľadom na nepriaznivý dopad metabolitov tohoto druhu na kvalitu vín je žiadúce neotáľaf s prvým stočením mladých NAV ihneď po dokvasení, bez ohľadu na úplné vyčistenie, a s udržiavaním hladiny voľného SO₂ vo víne v hraniciach, ktoré ešte umožňujú bakteriálne odbúranie kyseliny L-jabľčnej aj po prvom stočení.

Kvasinková flóra NAV po druhom stočení pozostáva prakticky len z kožkotvorných kvasiniek (*Hansenula anomala* var. *anomala*) a z bežných vzdušných kontaminantov, napr. *Rhodotorula* sp., *Torulopsis* sp. (tabuľka 2).

Doterajšie výsledky štúdia kvasinkovej flóry NAV poukazujú na nutnosť venovať zvýšenú pozornosť najmä biologickej stabilite suchých, a najmä polosuchých a polosladkých vín. NAV sú ohrozené najmä aeróbnymi

Tab. 3. Priemerná dominancia a frekvencia kvasiniek v mladých vínach malokarpatskej proveniencie pred prvým stočením (počet buniek $14-300 \cdot 10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$)

Nájdenny druh kvasiniek	Zastúpenie v mikroflóre %	Frekvencia vo víne %
<i>S. bailii</i> var. <i>bailii</i>	1,0	6,7
<i>S. cerevisiae</i>	59,1	86,7
<i>S. chevalieri</i>	1,7	13,3
<i>S. oviformis</i>	33,9	73,3
<i>Rh. glutinis</i> var. <i>glutinis</i>	4,3	13,3

Tab. 4. Priemerná dominancia a frekvencia kvasiniek v obchodných značkových fľašových vínach (počet buniek $14-300 \cdot 10^2 \cdot \text{ml}^{-1}$)

Nájdenny druh kvasiniek	Zastúpenie v mikroflóre %	Frekvencia vo víne %
<i>S. bailii</i> var. <i>bailii</i>	98,3	100,0
<i>Torulaspora rosei</i>	1,7	16,6

druhmi kvasiniek, ktoré tvoria na povrchu vína kožku (birzu), napr. *C. vini*, *C. krusei*, *P. membranaefaciens*, *H. anomala* var. *anomala* a pod. Z uvedeného tiež vyplýva, že plynulá dolievka, sústavné udržanie voľného SO_2 pri $40-50 \text{ mg.l}^{-1}$ a zamedzenie prístupu vzdušného kyslíka všeobecne, patria k základným preventívnym opatreniam pre zabezpečenie biologickej i biochemickej stability mladých nízkoalkoholických vín.

Kvasinky mladých vín s obsahom alkoholu > 10 obj. % pred prvým stočením

Vína roč. 1979 s hladinou alkoholu okolo 11 obj. % sa pred prvým stočením z kalov odoberali z rôznych prevádzkárň VZ, o. p. Pezinok. Z rôznych výškových hladín kvasných a ležiackych nádrží sa priemerné vzorky vína stáčali do 300 ml sterilných fliaš. Kvasinky sa izolovali výlučne membránovou filtráciou s nasledujúcou kultiváciou v Petriho miskách, čo umožňovalo stanoviť aj počet živých kvasničných buniek vo víne. Dovedna sa preskúmalo 15 vín odrôd Veltlínske zelené, Rizling vlašský, Rulandské biele a Tramín.

Ako vidieť z tabuľky 3 k dominantnej zložke kvasinkovej flóry mladých vín patria *S. cerevisiae* a *S. oviformis*. Prvé sa vyskytovali v 59% zastúpení v mikroflóre a s 87% frekvenciou vo vínach, druhé v 34% zastúpení a so 73% frekvenciou. Ostatné druhy sa vyskytovali skôr náhodne.

Potvrdilo sa, že dokvášajúce druhy *S. oviformis* a *S. cerevisiae* tvoria podstatnú časť kvasinkovej flóry mladých vín (93 %). V našich ekologických podmienkach zodpovedajú najčastejšie za druhotné kvasenie sudových (cisternových, tankových) vín so zvyškom cukru, teda za tzv. jarné dokvášanie.

Kvasinková flóra fľašových vín

Študovala sa mikroflóra 6 druhov obchodných polosuchých a polosladkých značkových vín nitrianskej proveniencie roč. 1978, ktoré vykazovali ľahký až nepatrný sediment. Vína sa filtrovali cez membránový filter (veľkosť pórov bola vždy $0,4-0,6 \mu\text{m}$). Po kultivácii sa stano-

vil počet živých kvasničných buniek a uskutočnila izolácia a identifikácia kvasiniek (tabuľka 4).

Mikrobiologický rozbor fľašových vín poskytol prekvapujúce výsledky (Bachová 1980). V sedimente týchto vín sa totiž našli až v 98% zastúpení osmotolerantné a chemorezistentné fruktofilné *S. bailii* var. *bailii*. Vzhľadom na skutočnosť, že tento druh je aj termotolerantný, patrí k obávaným pôvodcom zákalov vín južných vinohradníckych krajín (Rankine a Pilone 1973, 1974). Zvýšený výskyt v našich ekologických podmienkach poukazuje na možnosť zavlečenia tohoto druhu importom vín, pretože sa doteraz u nás vyskytoval iba sporadicky (Minárik 1986). Zistenie *S. bailii* var. *bailii* v československých fľašových vínach, hoci zatiaľ iba v jednej lokalite, poukazuje na význam a nevyhnutnosť podobných ekologických štúdií aj v ďalších vinohradníckych oblastiach a vinárskych prevádzkach. No už teraz možno konštatovať, že sa pri stabilizácii vín pred fľašovaním budú musieť aplikovať podstatne účinnejšie metódy stabilizácie, ako napr. sterilná (EK) filtrácia, sírenie do maximálnej povolenej hranice ČSN 56 7741, t. j. 30 až 40 mg.l^{-1} voľného SO_2 a u vín so zvyškom cukru, aplikácia zvýšených povolených koncentrácií kyseliny sorbovej, pasterizácia atp. Kombináciou fyzikálnej a chemickej stabilizácie bude možné účinnejšie preventívne zabrániť nežiadúcej aktivite týchto vysoko aktívnych a odolných kvasiniek.

Literatúra

- [1] BACHOVÁ, H.: Štúdium kontaminujúcej kvasinkovej flóry sudových a fľašových vín (Diplomová práca.) Bratislava 1980. — SVŠT. Chemickotechnologická fakulta
- [2] MINÁRIK, E.: Ekológia prírodných druhov vinných kvasiniek v Československu. Biol. práce SAV, 12, 1966, č. 4, 105. s.
- [3] MINÁRIK, E.: Niektoré vinársko-technologické vlastnosti československých kmeňov vinných kvasiniek. Kvas. prům., 23, 1977, č. 9, s. 207—212.
- [4] MINÁRIK, E.: Štúdium ekológie vinných kvasiniek a kvasinkových organizmov prírodných a druhotných stanovišť (Doktorská dizertácia.) Bratislava 1978 — Slovenská akadémia vied.
- [5] MINÁRIK, E., NAVARA, A.: Zum Vorkommen von Saccharomyces ludwigii Hansen in geschwefelten alkoholarmen Jungweinen. Mitt. Klosterneuburg, 27, 1977, č. 1, s. 1—3.
- [6] RANKINE, B. C., PILONE, D. A.: Saccharomyces bailii, a resistant yeast causing serious spoilage of bottled table wine. Amer. J. Enol. Viticult., 24, 1973, č. 2, s. 55—58.
- [7] RANKINE, B. C., PILONE, D. A.: Yeast spoilage of bottled table wine and its prevention. Austr. Wine, Brew. Spirit Rev., 92, 1974, č. 11, s. 36—40.

Minárik, E. - Bachová, H.: Kontaminujúce druhy kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov vína a ich vlastnosti. Kvas. prům., 25, 1980, č. 9, s. 206—208.

Štúdium ekológie kvasiniek mladých hroznových vín pred a po prvom stočení z kalov ukázalo, že v mikroflóre prevažujú vedľa dokvášajúcich druhov rodu Saccharomyces kožkotvorné kvasinky. Kvasinková flóra tzv. nízkoalkoholických vín sa kvalitatívne líši od mikroflóry vín s obsahom alkoholu > 10 obj. % len do prvého stočenia. Kvasinková flóra fľašových vín sa skladá takmer výlučne z druhov rodu Saccharomyces. Vysoká frekvencia a zastúpenie *S. bailii* var. *bailii* vo vínach poukazuje na nutnosť zvýšiť úsilie pri zabezpečovaní biologickej stability vín modernými kombinovanými fyzikálno-chemickými metódami.

Минарик, Э. — Бахова, Х.: Свойства дрожжей и дрожжам подобных микроорганизмов, обсеменяющих вино. Квас. прум. 26, 1980, № 9, стр. 206—208.

Изучение экологии дрожжей, обнаруженных в молодом виноградном вине до и после первой переливки показало, что в микрофлоре преобладают дображивающие дрожжи семейства Saccharomyces а кроме них тоже пленкообразующие дрожжи. Дрожжевая флора вина с низким содержанием спирта отличается качествен-

но от флоры вина, содержащего больше чем 10 % спирта в объемном выражении, лишь до первой переливки и устранения осадка. Флора бутылочного вина состоит почти исключительно из родов семейства *Saccharomyces*. Часто и в значительном количестве встречается род *Saccharomyces bailii* var. *bailii*. Это доказывает необходимость разработки дальнейших мер по обеспечению биологической стойкости вина путем применения современных физико-химических методов.

Minárik, E. - Bachová, H.: Contaminating yeast species and yeast-like microorganisms in wines and their qualities. Kvas. prům., 26, 1980, No. 9, pp. 206—208.

Ecological investigations on yeast in young grape wines prior to and after first racking indicate the predominance of species of the genus *Saccharomyces* accompanied by film-forming species in the microflora. The yeast flora of wines of low alcohol content does not qualitatively differ after first racking from wines with higher alcohol content. The yeast flora of bottled

wines consists almost completely of *Saccharomyces* species. High frequency and dominance of *S. Bailii* var. *bailii* in wines underline the importance of wine stabilization by modern physico-chemical methods.

Minárik, E. - Bachová, H.: Kontaminierende Hefearten und hefeähnliche Mikroorganismen des Weines und ihre Eigenschaften. Kvas. prům., 26, 1980, No. 9, S. 206—208.

Ökologische Untersuchungen an Hefen und hefeartigen Mikroorganismen von Jungweinen vor und nach dem ersten Abstich ergaben, daß in der Mikroflora neben Nachgärhefen der Gattung *Saccharomyces* kahmbildende Arten überwiegen. Die Hefenflora alkoholärmerer Weine unterscheidet sich qualitativ nicht von Weinen mit einem höherem Alkoholgehalt nach dem ersten Abstich. Die Hefenflora von Flaschenweinen besteht fast ausschließlich aus Arten der Gattung *Saccharomyces*. Die hohe Frequenz und Vertretung von *S. bailii* var. *bailii* in Weinen unterstreicht die Bedeutung moderner kombinierter physico-chemischer Methoden bei der Stabilisierung der Weine.