

## Príčiny, pôvodcovia a prevencia birzovatenia hroznových vín

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

663.258

Kožkotvorné kvasinky rodov *Candida*, *Pichia* a *Hansenula* vyvolávajú za istých okolností birzovatenie vína, t. j. na povrchu vína vytvárajú kožovitý povlak — kožku. Pre tieto kvasinky je charakteristické, že rastú na víne tak, že postupne sa tvoria pri okrajoch vínnych nádrží silnejší prstenec, neskôr „ostrovčeky“, ktoré sa postupne spájajú na súvislý film — povlak kožovitej konzistencie. Rozmnoženiu a aktivite kožkotvorných kvasiniek bráni spravidla skutočnosť, že sa vína v nádržiach po dokvasení pravidelne dolievajú po horný okraj, čím sa prakticky úplne znemožní prístup vzdušného kyslíka k vínu. Treba však uviesť, že kožkotvorné kvasinky sú najmä v mladých vínach pred a po prvom stočení z kalov vždy prítomné, ba mnohé druhy s kvasnou schopnosťou sa sčasti zúčastňujú aj alkoholického kvasenia (Minárik 1978). Kvasná schopnosť kožkotvorných kvasiniek je značne rozdielna, no vždy slabšia ako kvasiniek rodu *Saccharomyces*. Najvýraznejšia je u rodu *Hansenula*, menej u rodu *Pichia*, najslabšia u druhov rodu *Candida*.

V priebehu kvasenia sa aktivita kožkotvorných kvasiniek rýchle zmenšuje až úplne zaniká dôsledkom rýchleho zníženia redoxného potenciálu za striktné anaeróbnych podmienok. Kvasne virulentnejšie druhy

rodu *Saccharomyces* postupne úplne potlačia aeróbne druhy kvasiniek. Ich reaktivácia je možná až po dokvasení, keď je prístup vzduchu k vínu v neplných kvasných alebo ležiackych nádržiach možný. Dochádza napred k už uvedenej tvorbe prstenca, ostrovčekovitých povlakov, ktoré sa pri ďalšom nerušenom raste spájajú na súvislú, pokrčenú a značne zhrubnutú kožku. Táto je spočiatku biela a zametová, neskôr sivobiela, múčna.

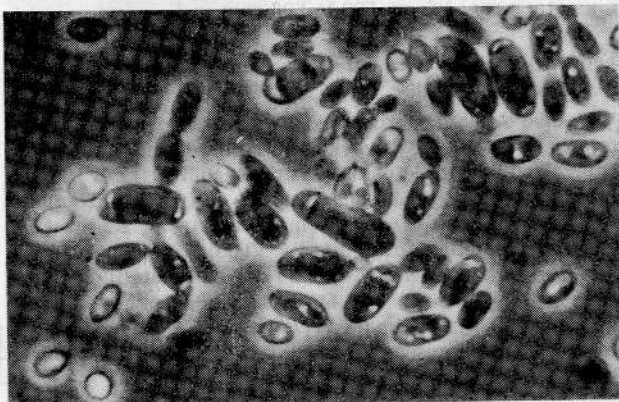
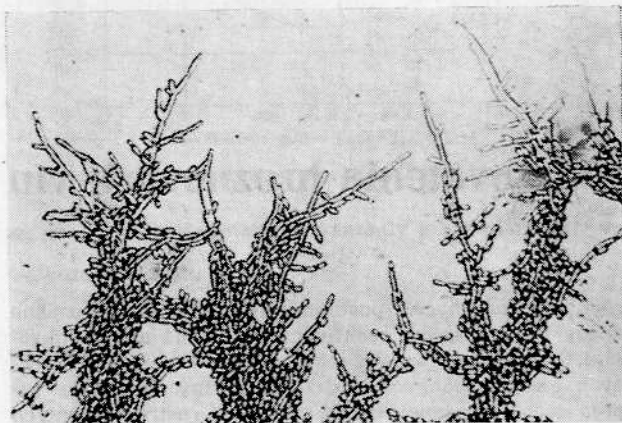
Schopnosť povrchového rastu kvasničných buniek súvisí s priaznivými podmienkami aerobiózy, ktorá favorizuje syntézu tuku v bunkách. Tým sa zmenšuje špecifická hmotnosť buniek. Inou príčinou „plávania“ kožky je hydrofóbia. Schopnosť rastu na povrchu vína podporuje aj skutočnosť, že za prístupu vzduchu sa väčšina buniek kvasiniek predlžuje, dochádza k vytváraniu pseudomyceliárnych útvarov, ktoré sa rýchle prarastajú a spájajú na zväzky resp. splstnatelú povrchovú vegetáciu kožky (Dittrich 1977).

### Zmeny zloženia vína dôsledkom aktivity kožkotvorných kvasiniek

Povrchový rast kožkotvorných kvasiniek na víne spôsobuje zmeny v chemickom zložení a v senzorických vlastnostiach vína. Ako vidieť z *tabuľky 1*, mení sa na-

Tabuľka 1. Zmeny v chemickom zložení nízkoalkoholického vína napadnutého birzou

Ukazovatele	Biele víno		Červené víno	
	zdravé	po birze	zdravé	po birze
Alkohol obj. %	8,3	7,2	9,3	5,7
Titrovateľné kyseliny g.l <sup>-1</sup>	10,0	6,9	10,3	9,4
Prchavé kyseliny g.l <sup>-1</sup>	0,48	0,60	0,55	0,85
Extraktový zvyšok g.l <sup>-1</sup>	18,1	14,9	18,4	16,6
Glycerol	6,1	4,8	7,5	6,3

Obr. 1. *Candida vini*  
3-dňová kultúra na sladinkovom agare. Fázový kontrast, zväčš. ca 900 X (platí aj pre obr. 3—4, 6 a 8—9)Obr. 2. *Candida vini*  
Pseudomycélium na zemiakovom agare. Neľadné, zväčš. ca 300 X (platí aj pre obr. 5 a 7)

jmä hladina alkoholu, titrovateľných a prchavých kyselín, obsah glycerolu a extraktového zvyšku. Kožkovitné kvasinky znižujú obsah alkoholu. Za aeróbného metabolizmu predychajú časť etanolu podobne ako kvasinky typu Sherry (*Saccharomyces cheresiensis*, *S. protoserdovii*). Rozklad prebieha redukciami etanolu na acetaldehyd a cez aktivovanú kyselinu octovú a cyklus kyseliny citrónovej na CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O. Bezprostredným dôsledkom odbúrania etanolu je tvorba acetaldehydu, kyseliny octovej a etyl- a amylacetátu. K oxidácii kyseliny octovej dochádza až vtedy, keď sa väčšia časť etanolu predýchala. Ďalším dôsledkom respirácie kožkovitých kvasiniek je zníženie obsahu bezcukornatého

extraktu, teda zníženie plnosti vína. Dochádza totiž aj k predychaniu časti neprchavých kyselín a extraktotvorného glycerolu.

Senzoricky sa vína napadnuté birzou vyznačujú osobitnou charakteristickou „zoxidovanou“, zvetralou príchuťou, prázdnotou, bezvýraznosťou, zastretým odrodovým charakterom vo vône i v chuti. Chyba vína sa prejavuje o to intenzívnejšie, čím je birza staršia, zanedbanejšia.

#### Najčastejší pôvodcovia birzovatenia vína

##### Aspórogné kvasinky rodu *Candida*

Najčastejšími pôvodcami birzovatenia sú druhy *Candida vini*, *C. krusei* a *C. zeylanoides*. Na základe ekologických štúdií uskutočnených v rokoch 1957—1975 zodpovedajú tieto druhy kvasiniek za 90 % všetkých zistených prípadov birzovatenia vín v ČSSR. V 10 % prípadov ochorenia vín birzou zistili aj ďalšie druhy sporogenných kvasiniek (*Pichia membranaefaciens*, *P. fermentans*, *P. farinosa*, *Hansenula anomala* var. *anomala*).

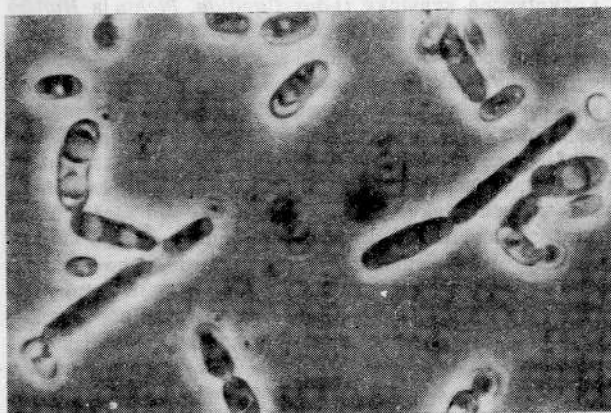
Popis druhov podľa Lodder et al. (1970):

*Candida vini* (Desmazières) van Uden et Buckley (obr. 1)

V mušte oválne až pretiahnuté bunky, často v retiazkach alebo zhlukoch. Celkové variačné rozpätie šírky a dĺžky je (2—5) × (3—16) μm. Na tekutých živných pôdach (mušt, sladinka) sa tvorí postupne hrubnúca, matná až múčna šplhajúca sivobiela kožka. Bunky z kožky sú silne inkrustované tukovými inklúziami. Estery spravidla netvorí, pseudomycélium na zemiakovom alebo cibulovom agare býva bohaté vyvinuté, no bez blastospór (obr. 2). Kvasinky asimilujú len glukózu, ostatné diaľnostické cukry nevyužívajú. Asimilujú dobre etanol ako jediný zdroj C, KNO<sub>3</sub> ako zdroj N nevyužívajú.

*Candida krusei* Berkhout (obr. 3)

Bunky sú oválne až pretiahnuté, v retiazkach alebo zhlukoch. Celkové variačné rozpätie veľkosti (3—5) × (4,5—10,5) μm. Na povrchu muštu a sladinky sa tvorí súvislá šplhajúca biela až sivobiela múčna kožka. Bohatá produkcia pseudomycélia s blastospórmi. Kvasinky asimilujú a kvasia glukózu, ostatné diaľnostické cukry nevyužívajú. Produkcia esterov. Etanol ako jediný zdroj C asimilujú, KNO<sub>3</sub> nevyužívajú. Spektrom využívaných cukrov i morfológicky sa podobá perfektnému druhu *Pichia fermentans*.

Obr. 3. *Candida krusei*

*Candida zeylanoides* (Cast.) Langeron et Guerra

V mušte sú bunky oválne až mierne pretiahnuté s celkovým variačným rozpätím šírky a dĺžky (2,5—5) × (4,5—8,5) μm. Kožka sa na mušte zväčša netvorí alebo



Tabuľka 2. Frekvencia a zastúpenie kožkotvorných kvasiniek v bielych suchých a sladkých vínach ČSSR

Druh kvasiniek	Počet izol. kmeňov	Zistené v počte vín	Frekvencia vo vínach %	Zastúpenie v mikroflóre vín %
P. fermentans	1	1	0,6	0,15
P. membranaefaciens	13	7	4,3	1,97
H. anomala var. anomala	2	2	1,2	0,15
C. krusei	5	2	1,2	0,46
C. zeylanoides	47	14	8,6	4,31
C. vini	187	50	30,8	19,05

(Celkový počet skúmaných vín: 162)

Celkový počet izolovaných kmeňov kvasiniek: 980

Ø počet kmeňov izolovaných z 1 vzorky vína: 6,2)

Tabuľka 3. Frekvencia a zastúpenie kvasiniek vo vínach českej vinohradníckej oblasti

Druh kvasiniek	Počet izol. kmeňov	Zastúpenie v kvas. flóre %	Zistené v počte vín	Frekvencia vo víne %
Spórogenné kvasinky	52	64,19	10	83,3
S. cerevisiae	34	41,97	9	75,0
S. oviformis	10	12,34	4	33,3
S. bayanus	2	2,46	1	8,3
S. bailii var. bailii	5	6,17	2	16,6
P. fermentans	1	1,23	1	8,3
Asporogenné kvasinky	29	35,80	7	58,3
C. krusei	2	2,46	1	8,3
C. zeylanoides	6	7,40	2	16,6
C. vini	21	25,92	5	41,6

len nedokonale. Cukry nekvasí, asimiluje iba glukózu, podobne ako *C. vini*. Etanol nevyužíva, alebo len slabo,  $\text{KNO}_3$  neasimiluje. Od *C. vini* sa líši najmä morfológicky oválnymi bunkami a neschopnosťou vytvárať súvislú kožu na mušte. Tvorba pseudomycélia je nedokonalá. Býva síce často súčasťou mikroflóry vín, za birzovatenie však väčšinou nezodpovedá.

Spórogenné kvasinky rodu *Hansenula*

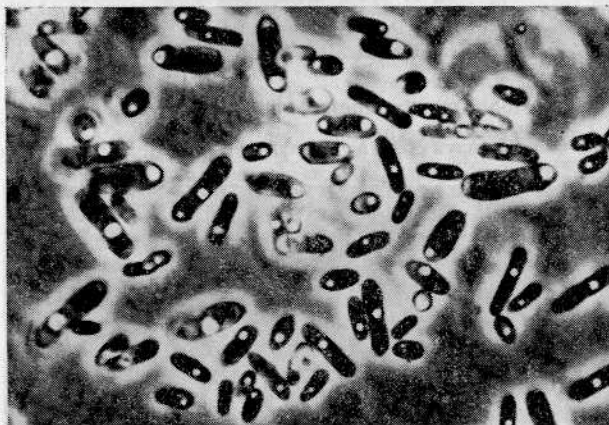
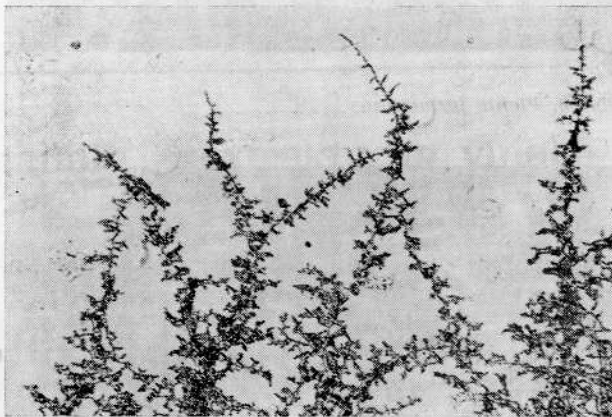
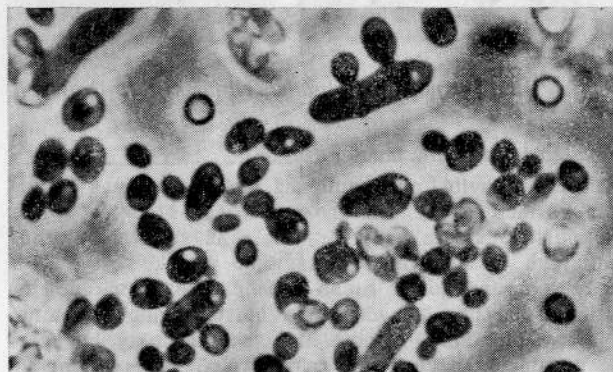
*Hansenula anomala* (Hansen) Sydow var. *anomala* (obr. 4)

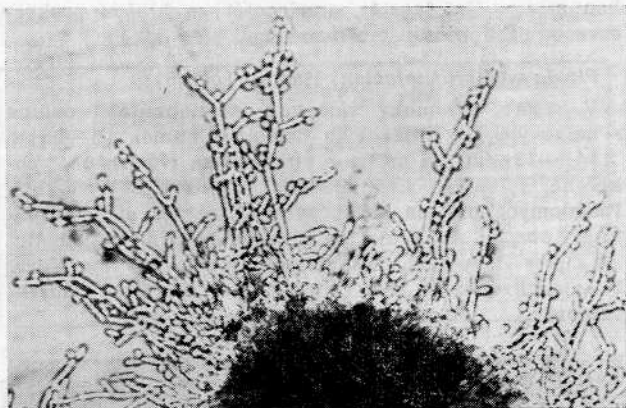
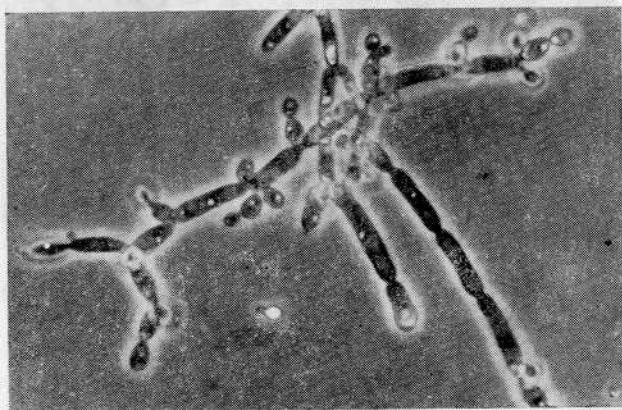
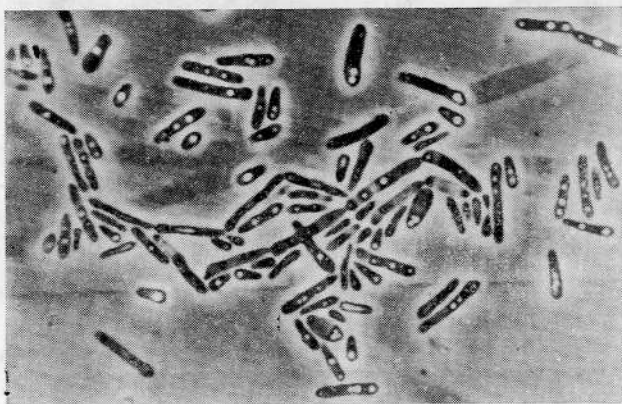
V mušte sú bunky valcovité až pretiahnuté, občas aj oválne s variačným rozpätím šírky a dĺžky  $(2,5-5,5) \times (5-14) \mu\text{m}$ . Na povrchu živných pôd tvorí suchú, matnú vysokošplhajúcu špinavobielu kožu s uzatvorenými bublinkami  $\text{CO}_2$ . Na sporulačných pôdach tvorí klobúčikové, guľovité až pologuľovité hladké spóry. Na zemiakovom agare vytvára dokonalé, bohaté vetvené pseudomycélium s chumáčovite usporiadanými guľatými blastospórmi (obr. 5). Asimiluje a skvasuje glukózu, galaktózu, sacharózu, maltózu a rafinózu do 1/3. Štiepi  $\beta$ -glukozidy (arbutín, eskulín),  $\text{KNO}_3$  využíva ako jediný zdroj N. Etanol ako jediný zdroj C asimiluje. Glukózu a fruktózu v zmesi oboch hexóz skvasuje približne rovnakou rýchlosťou. Od kvasiniek rodu *Pichia* sa rozlišuje schopnosťou asimilovať  $\text{KNO}_3$ , veľmi intenzívnou tvor-

bou esterov (etylacetát, amylacetát) a hlbšou prekvasovacou schopnosťou muštu.

*Pichia membranaefaciens* Hansen (obr. 6)

V mušte sú bunky valcovité, pretiahnuté i oválne s celkovým šírko-dĺžkovým pomerom buniek  $(3-4,5) \times (4,5-12) \mu\text{m}$ . Na mušte a sladinke sa tvorí hrubá, pokrčená, šplhajúca sivobiela koža. Estery neprodukuje. Pseudomycélium má stromčovitý charakter s blastospórmi (obr. 7). Asimiluje len glukózu, ostatné diazotické cukry nevyužíva. Etanol asimiluje,  $\text{KNO}_3$  nevyužíva. Vo vínach občas v asociácii s *C. vini* zapríčiňuje birzovatenie.

Obr. 4. *Hansenula anomala* var. *anomala*Obr. 5. *Hansenula anomala* var. *anomala*  
PseudomycéliumObr. 6. *Pichia membranaefaciens*

Obr. 7. *Pichia membranaefaciens*  
PseudomycéliumObr. 8. *Pichia fermentans*Obr. 9. *Pichia farinosa*. Originál E. Minárik, foto G. Czech*Pichia fermentans* Lodder (obr. 8)

Tvorí valcovité, pretiahnuté až oválne bunky s celkovým variačným rozpätím rozmerov  $(3-4) \times (4-14) \mu\text{m}$ . Na mušte a sladinke vytvára bielu až sivobielu matnú, šplhajúcu kožu. Ťažko sporuluje: v asku býva 1-3 spór. Spóry sú guľaté alebo klobúčikové. Tvorí typické rozkonárené pseudomycélium s blastospórmi. Asimiluje a kvasí glukózu, ostatné diagnostické cukry nevyužíva. Vo vínach sa vyskytuje zriedkavo. Od *P. membranaefaciens* sa líši hlavne schopnosťou skvasovať glukózu.

*Pichia farinosa* (Lindner) Hansen (obr. 9)

Bunky v mušte sú valcovité, dosť pretiahnuté a štíhle. Variačné rozpätie šírky a dĺžky buniek činí  $(2-4,5) \times (4-16) \mu\text{m}$ . Na mušte a sladinke vytvára hrubšiu, pokrčenú a súvislú kožu. Pseudomycélium má stromčekový tvar, niekedy sa tvoria aj blastospóry. Spóry sú guľaté až oválne, hladké, 2-4 v asku. V bunkách i spórach bývajú inklúzie tuku. Kvasí slabú glukózu a galaktózu, ostatné diagnostické cukry nevyužíva.  $\text{KNO}_3$  neasimiluje, etanol využíva ako jediný zdroj C. Slabo štiepi arbutín (eskulín). Vo vínach sa vyskytuje veľmi vzácnne. Birzu vytvára ojedinele v spoločenstve s *C. vini* alebo inými kožkotvornými druhmi kvasiniek.

## Frekvencia kožkotvorných kvasiniek vo vínach

V tabuľke 2 sa uvádza frekvencia vo vínach a zastúpenie v kvasinkovej flóre v československých vínach sa vyskytujúcich kožkotvorných kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov. Vidieť, že *C. vini* s takmer 31% frekvenciou a 19% zastúpením v mikroflóre vín je najrozšírenejším druhom a v našich ekologických podmienkach výroby vína aj najčastejšie zodpovedá za birzovanie. Druhým najrozšírenejším druhom je príbuzná *C. zeylanoides* s 8,6% frekvenciou vo vínach a 4,3% zastúpením v mikroflóre. *C. krusei*, *H. anomala* var. *anomala* a *P. membranaefaciens* s 1,2% frekvenciou a 0,15-2,0% zastúpením v kvasinkovej flóre možno označiť za sprievodné kožkotvorné druhy, kým *P. fermentans* sa vo vínach vyskytuje skôr ojedinele a náhodile (frekvencia 0,6%, zastúpenie v mikroflóre 0,15%).

Treba však uviesť, že v okrajových vinohradníckych oblastiach (napr. v českej, skalicko-záhorskej a pod.) je frekvencia a zastúpenie kožkotvorných druhov kvasiniek vo vínach podstatne vyššie (tabuľka 3).

Kvasinková flóra mladých hroznových vín bielych odrôd vykazuje zvyčajne vyšší podiel nesporulujúcich kožkotvorných kvasiniek ako mikroflóra červených vín; zdá sa, že červené vína sú na birzovanie menej náchylné.

## Technologické dôsledky a prevencia vzniku birzy

Ochrana vína pred birzou, t. j. vytváraním povlaku kožkotvorných kvasiniek na povrchu vína, spočíva v dodržovaní striktné anaeróbných podmienok pri dokvážaní a po ňom. Najdôležitejšia je ochrana vína pred oxidáciou sústavou dolievky vína v kvasných a ležiacej nádržiach. Preventívny účinok má aj vyšší obsah alkoholu vína. Najviac sú ohrozené nízkoalkoholické vína s obsahom alkoholu < 10 obj. %. Z praxe je známe, že vína s obsahom alkoholu 12-12,5 obj. % sú pri dodržaní ostatných podmienok anoxidatívnej technológie prakticky voči aktivite kožkotvorných kvasiniek dostatočne chránené a imúnne. Vína s nižším obsahom alkoholu sú voči kožkotvorným kvasinkám o to citlivejšie, o čo je teplota skladovania vín vyššia. Vzhľadom na relatívne vysokú rezistenciu kožkotvorných kvasiniek voči  $\text{SO}_2$ , samotné sírenie bez sústavnej dolievky, je neúčinné. Hygiena a sanitácia pivničných priestorov a zariadení prispieva k prevencii vzniku birzy.

Odstránenie kožkotvorných kvasiniek z vína napadnutých birzou by sa malo zásadne uskutočniť ostrou filtráciou. Vyplavenie kožky z vinnej nádrže alebo stočenie vína spod povlaku zbierzovaného vína je len núdzové a predbežné opatrenie, po ktorom musí nasledovať ostrá, najlepšie EK-filtrácia (Minárik, Bachová 1980). Pre zabránenie vzniku birzy platia pravidlá, ktorými sa riadi prevencia všetkých chorôb vína, dvojnásobne: rýchle a účinné opatrenia znemožňujúce rast, vývin a aktivitu kožkotvorných kvasiniek na povrchu vína. K nim patria najmä sústavná a pečlivá dolievka vína, udržiavanie adekvátnej koncentrácie voľného  $\text{SO}_2$ , nízka teplota skladovania, prísna hygiena a sanitácia, a pochopiteľne, častá kontrola zdravotného stavu vína.



## Literatúra

- [1] DITTRICH, H. - H.: Mikrobiologie des Weines. E. Ulmer Verlag, Stuttgart 1977
- [2] LODDER, J. (ed.) et al.: The Yeasts, a Taxonomic Study. North-Holland Publ. Co., Amsterdam 1970.
- [3] MINÁRIK, E.: Štúdium ekológie vínnych kvasiniek a kvasinkových organizmov prírodných a druhotných stanovišť. (Doktorská dizertácia.) SAV, Bratislava 1978
- [4] MINÁRIK, E. - BACHOVÁ, H.: Kontaminujúce druhy kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov vín a ich vlastnosti. Kvas. priem., 26, 1980, č. 9, s. 206—208.

**Minárik, E.: Príčiny, pôvodcovia a prevencia birzovania hroznových vín.** Kvas. priem., 27, 1981, č. 6, s. 129—133.

Uvádžajú sa výsledky dlhoročného štúdia ekológie kožkotvorných kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov hroznových vín v ČSSR. K najčastejším pôvodcom birzovania vína patria asporogénne druhy *Candida vini* a *C. zeylanoides* a spórogénne *Pichia membranaefaciens*. K sprievodným pôvodcom birzovania možno počítať ešte *C. krusei*, *H. anomala* var. *anomala* a *P. fermentans*. Popisujú sa najdôležitejšie vlastnosti týchto kvasiniek a vyvodzujú technologické dôsledky spojené s prevenciou vzniku birzy na vínach.

**Минарик, Е.: Происхождение, причины и предотвращение образования цвели виноградных вин.** Квас. прум., 27, 1981, № 6, стр. 129—133.

Приводятся результаты многолетних исследований экологии пленкообразующих дрожжей и дрожжевых микроорганизмов виноградных вин в ЧССР. Чаше всего цвель вина вызывают аспорогенные штаммы *Candida vini*, *C. zeylanoides*, и спорогенные *Pichia membranaefaciens*. К сопровождающим деятелям можно отнести еще и *C. krusei*, *H. anomala* var. *anomala* *P. fermentans*. Описываются важнейшие свойства этих дрожжей и сум-

мируются технологические следствия, связанные с предотвращением возникновения цвели вин.

**Minárik, E.: Reasons, originators and prevention of film-formation on wines.** Kvas. priem., 27, 1981, No. 6, pp. 129—133.

Results of long-term studies on the ecology of film-forming yeasts and yeast-like microorganisms in Czechoslovak wines are given. The asporogenous yeasts *Candida vini* and *C. zeylanoides* and the sporogenous *Pichia membranaefaciens* belong to the most widespread originators of film-formation on wines. They may be accompanied by *C. krusei*, *H. anomala* var. *anomala* and *P. fermentans*. The most important characteristics of the yeast species are described and technological conclusions connected with the prevention of film-formation on wines are drawn.

**Minárik, E.: Ursachen, Erreger und Prävention des Verkahmens von Traubenweinen.** Kvas. priem., 27, 1981, No. 6, S. 129—133.

Es werden Ergebnisse langjähriger Untersuchungen der Ökologie von Kahlmhefen und hefeartigen Mikroorganismen der Traubenweine in der Tschechoslowakei dargelegt. Als meistverbreitete Erreger des Verkahmens der Weine werden die asporogenen Hefearten *Candida vini* und *C. zeylanoides* und die sporogenen *Pichia membranaefaciens* angeführt. Als Begleiterreger des Verkahmens sind noch *C. krusei*, *H. anomala* var. *anomala* und *P. fermentans* zu erwähnen. Die wichtigsten Eigenschaften dieser Hefearten werden beschrieben und technologische Folgerungen, die mit der Prävention des Verkahmens der Weine in Zusammenhang stehen, kurz erläutert.