

# Vplyv zmiešaných a združených kultúr kvasiniek na kvasenie muštu a akosť vína

663.252.41 663.252.4

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

Už dávnejšie je známe, že *Saccharomyces (Torulaspora) rosei* počas alkoholického kvasenia produkuje veľmi málo prchavých kyselín. Súčasne je aj slabším producentom alkoholu. CASTELLI (1954) a neskôr SCHANDERL (1959) odporúčali zakvasovať hroznové mušty najskôr čistou kultúrou *S. rosei*, a po dokvasení, asi v 4. až 5. deň, dodatočne ešte kultúrou *S. cerevisiae*.

V našich skorších prácach sme zistili, že pri aplikácii zmiešaných kultúr vinných kvasiniek, ktoré sa pripravovali oddelene v osobitných zákvasoch, sa pri kvasení sterilného muštu uplatňujú predovšetkým kvasinky, ktoré sa rýchlejšie rozmnožujú v prvej fáze kvasenia (*S. cerevisiae*, *S. carlsbergensis*), kým *S. oviformis* nadobúda prevahu v muštoch, ktoré sa zakvasili zmiešanou kultúrou *S. cerevisiae* — *S. oviformis* pripravenou v spoločnom zákvasu (MINÁRIK 1965).

Pri kvasení nesterilného muštu čistou kultúrou sa pri aplikácii  $\geq 2\%$  zákvasu *S. cerevisiae*, *S. oviformis* alebo *S. carlsbergensis* uplatňuje spravidla použitý kmeň kvasiniek, ktorý sa za normálnych podmienok kvasenia presadí nad spontánnou mikroflórou. Ak sa použije zmiešaná kultúra, ktorá sa pripravila oddelene v osobitných zákvasoch, prevláda počas búrlivého kvasenia spoločnosť *S. cerevisiae* — *S. carlsbergensis*, pri dokvasení *S. oviformis*. V spoločnom zákvasu dominuje takmer vždy *S. oviformis*. Zistili sme, že z rôznych kombinácií zmiešaných kultúr vinných kvasiniek sa najlepšie osvedčuje asociácia *S. rosei* so *S. cerevisiae*, *S. oviformis* alebo *S. carlsbergensis*.

LAFON-LAFOURCADE et al. (1982) navrhujú zakvasiť mušty s vysokou cukornatosťou, pripravené spravidla z hrozna napadnutého botrytídou (ušľachtilou hnilobou) tzv. podvojnou (zmiešanou) kultúrou *S. rosei* alebo *S. capensis* s hustotou populácie  $10^7$  buniek/ml a *S. cerevisiae* s hustotou populácie  $\leq 10^5$  buniek/ml. Ako optimálny pomer medzi *S. cerevisiae* a *S. rosei* pri zakvasení uvádzajú asi 1 : 100.

Cieľom našej práce bolo preveriť možnosti a porovnať účinnosť zákvasov pripravených čistou, zmiešanou a združenou kultúrou pri výrobe hroznových vín a posúdiť kvalitu týchto výrobkov.

## Materiál a použité metódy

Ako testovacie organizmy sa použili čisté selektované kultúry vinných kvasiniek zo zbierky Komplexného výskumného ústavu vinohradníckeho a vinárskeho v Bratislave:

V 10-35-41 (kmeň Hliník 1) *S. cerevisiae*  
V 10-25-8 (kmeň Bratislava 1) *S. oviformis*  
10-39-1 *S. capensis*  
17-2-15 *S. rosei*

Kvasné skúšky sa robili pri 25 °C v 500 ml kvasných bankách s 300 ml sterilného muštu s cukornatosťou 230 g.l<sup>-1</sup> a pH 3,15. Mušty sa zakvasovali vždy celkovo 5% zákvasom 3 dňových kultúr. Prehľad o jednotlivých pokusných variantoch s aplikáciou čistých kultúr (var. 1—4), zmiešaných kultúr (var. 5—12) a združených kultúr (var. 13—16) poskytuje tabuľka 1.

Na zaočkovanie použité kultúry pozostávali z jediného kmeňa (varianty 1—4), zmiešané kultúry predstavujú

Tabuľka 1. Použité kultúry kvasiniek

Variant pokusu	Druh kvasiniek (podiel v zákvasu %)	Druh kvasiniek (podiel v zákvasu %)	Povaha kultúry
1	<i>S. rosei</i> (100)	—	čistá
2	<i>S. capensis</i> (100)	—	
3	<i>S. cerevisiae</i> (100)	—	
4	<i>S. oviformis</i> (100)	—	
5	<i>S. rosei</i> (90)	<i>S. cerevisiae</i> (10)	zmiešaná
6	<i>S. rosei</i> (99)	<i>S. cerevisiae</i> (1)	
7	<i>S. rosei</i> (90)	<i>S. oviformis</i> (10)	
8	<i>S. rosei</i> (99)	<i>S. oviformis</i> (1)	
9	<i>S. capensis</i> (90)	<i>S. cerevisiae</i> (10)	
10	<i>S. capensis</i> (99)	<i>S. cerevisiae</i> (1)	
11	<i>S. capensis</i> (90)	<i>S. oviformis</i> (10)	
12	<i>S. capensis</i> (99)	<i>S. oviformis</i> (1)	
13	<i>S. rosei</i> (100)	<i>S. cerevisiae</i> (100)	združená*)
14	<i>S. rosei</i> (100)	<i>S. oviformis</i> (100)	
15	<i>S. capensis</i> (100)	<i>S. cerevisiae</i> (100)	
16	<i>S. capensis</i> (100)	<i>S. oviformis</i> (100)	

\*) po dokvasení *S. rosei* alebo *S. capensis* prekvasené po 35 dňoch *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis*

vždy dva kmene, ktoré sa zaočkovali v príslušnom pomere súčasne (varianty 5—12). U združených kultúr sa mušt zaočkoval najskôr zákvasom *S. rosei* alebo *S. capensis* a po dokvasení (po 35 dňoch) bol mušt zakvasený a dokvasený druhým kmeňom (*S. cerevisiae* alebo *S. oviformis*) — varianty 13—16.

Ako sa už uviedlo, pre varianty 1—12 sa použil vždy 5% zákvas príslušného kmeňa alebo kmeňov vzhľadom k objemu kvasného média. Pri kombinovaných zákvasoch (zmiešaných kultúrach), napr. 90 % *S. rosei* a 10 % *S. cerevisiae*, se zaočkovalo 4,5 % kmeňa prvého a 0,5 % kmeňa druhého, a pod.

U variantov 13—16, teda u združených kultúr, sa mušty najskôr zakvasili 5% zákvasom kvasne málo virulentných *S. rosei* alebo *S. capensis*, a po dokvasení sa zvyškový cukor prekvasil opäť 5% zákvasom *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis*.

Priebeh alkoholického kvasenia sa sledoval kvantitatívne denným stanovením úbytku oxidu uhličitého. Po dokvasení sa stanovili niektoré esenciálne zložky skvaseného muštu.

## Výsledky a zhodnotenie

Najvyššie hladiny alkoholu dosiahli varianty kvasené čistými kultúrami *S. oviformis* (13,86 obj. %) a *S. cerevisiae* (13,78 obj. %). Vína však vykazovali 0,82, resp.

Tabuľka 2. Zloženie muštu skvaseného čistou, zmiešanou a združenou kultúrou kvasiniek

Variant pokusu	Alkohol obj. %	Redukujúce cukry g.l <sup>-1</sup>	Kyseliny		Oxid siričitý g.l <sup>-1</sup>	pH	Úbytok CO <sub>2</sub> g/300 ml	Povaha kultúry
			všetky g.l <sup>-1</sup>	prchavé g.l <sup>-1</sup>				
1	7,25	116,0	13,7	0,23	21,8	3,16	18,00	Čistá
2	10,49	60,0	12,4	0,62	24,3	3,04	26,50	
3	13,78	9,6	13,9	0,80	43,6	3,15	34,40	
4	13,86	8,0	14,4	0,82	44,8	3,14	35,95	
5	13,42	24,0	14,0	0,67	39,7	3,15	33,00	Zmiešaná
6	12,46	28,0	13,2	0,62	38,4	3,14	31,55	
7	13,78	24,0	13,7	0,66	38,4	3,16	34,85	
8	12,29	30,8	13,6	0,63	34,6	3,17	30,60	
9	11,25	46,0	14,5	1,40	25,6	3,05	28,35	
10	10,74	51,0	14,8	1,30	25,6	3,08	26,65	
11	11,34	42,0	15,6	1,30	19,2	3,07	28,40	
12	10,83	51,0	14,7	1,30	25,6	3,04	26,90	
13	13,78	5,0	12,8	0,67	53,8	3,00	19,25	Združená
14	13,51	5,0	13,0	0,58	64,1	3,05	10,10	
15	11,42	35,0	13,9	1,20	26,2	2,80	12,75	
16	11,34		13,0	1,30	33,3	2,80	13,15	

0,80 g.l<sup>-1</sup> prchavých kyselín (vyjadrených ako kyselina octová).

Vysoký obsah alkoholu [13,78 a 13,51 obj. %], najhlbšie prekvasenie cukru (5,0 g.l<sup>-1</sup> zvyškového cukru) a najnižšie hladiny prchavých kyselín (0,67 a 0,58 g.l<sup>-1</sup>) sa dosiahli u združených kultúr *S. rosei* — *S. cerevisiae* a *S. rosei* — *S. oviformis*. Priebeh kvasenia čistými kultúrami a niektorými kombináciami zmiešaných a združených kultúr kvasiniek vidieť na obr. 1—2. Označenie variantov vyplýva z tabuľky 1.

Absolútne najkompletnejšie prekvasenie muštu sa docielilo pri kombinácii zmiešanej kultúry *S. rosei* — *S. oviformis* [9:1], pri združenej kultúre *S. rosei* — *S. cerevisiae*, *S. rosei* — *S. oviformis* a u čistých kultúr *S. cerevisiae* a *S. oviformis*. Najnižšie koncentrácie prchavých kyselín vykazovali vína kvasené čistou kultúrou *S. rosei* — 0,23 g.l<sup>-1</sup> a kombinácie *S. rosei* so *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis* v zmiešaných alebo združených kultúrach tabuľka 2).

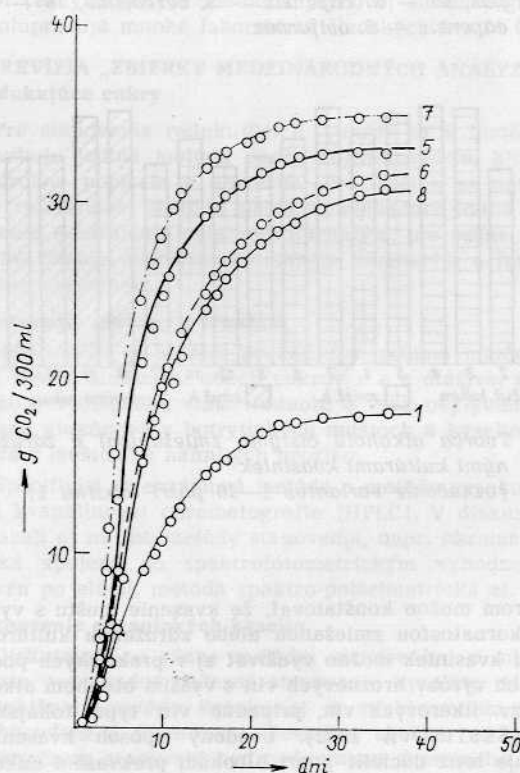
V rozpore s údajmi francúzskych autorov [LAFON-LAFOURCADE et al. 1982] aplikácia *S. capensis* ako čistá kultúra (variant 2), alebo v zmiešanej kultúre (varianty 9—12) alebo v združených kultúrach (varianty 15—16) sa javila ako naprosto nevhodná. Tento druh nielen že je málo výkonný, no produkuje aj viac prchavých kyselín, podobne ako väčšina ostatných druhov rodu *Saccharomyces*.

Prehľad o produkcii alkoholu a prchavých kyselín jednotlivých pokusných variantov vidieť na obr. 3—4.

Výsledky pokusov jednoznačne naznačili, že najnižšiu koncentráciu prchavých kyselín vo vykvasených vínach možno docieľiť kombináciou kvasne málo výkonných *S. rosei* so *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis* v zmiešanej alebo združenej kultúre. Aby sa však dosiahlo aj hlboké prekvasenie, treba zachovať pomer 90 % *S. rosei* a 10 % *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis* popri celkovom zákvase 5 % vzhľadom na objem skvaseného muštu. Pri pomere 99 % *S. rosei* a 1 % *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis*, ako to navrhujú citovaní francúzski autori, je hĺbka prekvasenia muštu nedostatočná.

V podstate sme potvrdili staršie výsledky pokusov CASTELLIHO (1954), ktorý navrhol zakvasiť mušt napred

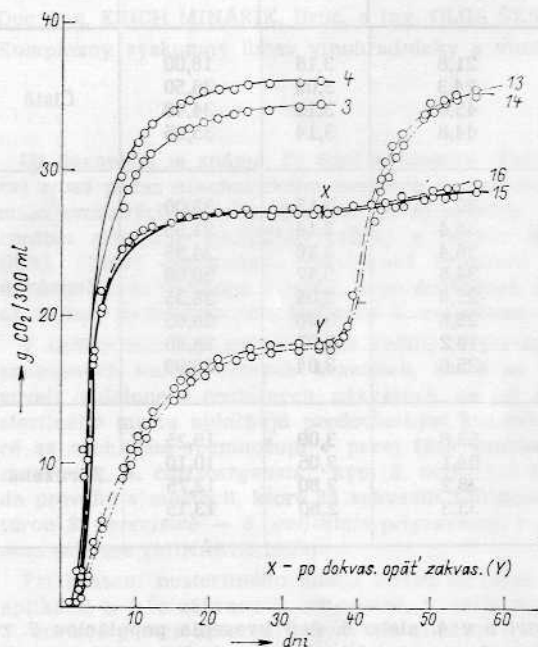
*S. rosei* a v 4. alebo 5. deň kvasenia populáciou *S. cerevisiae*. Pre praktické účely vinárskej výroby je však účelnejšie používať zmiešané kultúry jediným zákvasom tak, aby nebolo treba mušty zakvasovať dvakrát za sebou. Výsledky takisto potvrdili náš predpoklad, že kva-



Obr. 1. Kvasenie muštu čistou a zmiešanou kultúrou kvasiniek  
1 — *S. rosei*, 5 — *S. rosei* + *S. cerevisiae* [9:1],  
6 — *S. rosei* + *S. cerevisiae* [99:1], 7 — *S. rosei* + *S. oviformis* [9:1],  
— *S. rosei* + *S. oviformis* [99:1].

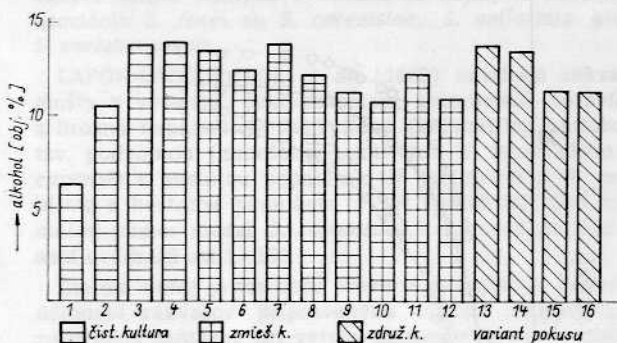


senie muštu je o to úplnejšie a hladina prchavých kyselín o to nižšia, čím je pomer acetogénnych kvasiniek nižší, avšak len do tej miery, aby ešte došlo k prakticky totálnemu odbúraní sacharidov muštu.



Obr. 2. Kvasenie muštu čistou a združenou kultúrou kvasiniek

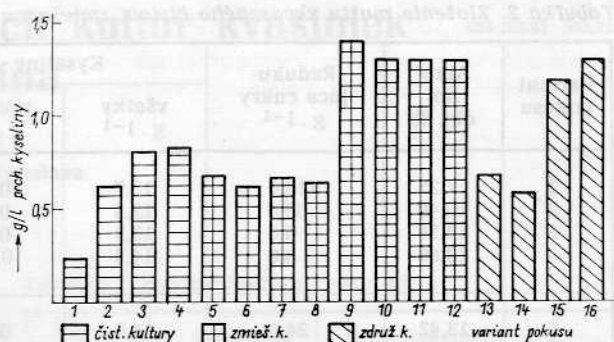
3 — *S. cerevisiae*, 4 — *S. oviformis*, 13 — *S. rosei* — *S. cerevisiae*, 14 — *S. rosei* — *S. oviformis*, 15 — *S. capensis* — *S. cerevisiae*, 16 — *S. capensis* — *S. oviformis*.



Obr. 3. Tvorbba alkoholu čistými, zmiešanými a združenými kultúrami kvasiniek  
(označenie variantov 1–16 pozri tabuľku 1)

Záverom možno konštatovať, že kvasenie muštu s vyššou cukornatosťou zmiešanou alebo združenou kultúrou vinných kvasiniek možno využívať aj v praktických podmienkach výroby hroznových vín s vyšším obsahom alkoholu, tzv. likérových vín, prípadne vín typu tokajský výber (ŠESTINOVÁ 1982). Uvedený spôsob kvasenia umožňuje totiž doceliť popri hlbokom prekvasení cukru vína s nízkou hladinou prchavých kyselín. Je vhodný o. i. pri kvasení tokajských muštov vyrobených z botrytických hroznov, ktoré po dokvasení vykazujú spravidla vyšší obsah prchavých kyselín.

Autori ďakujú s. Zuzane Šilhárovej, Márii Petrušovej a Alene Švancarovej za technickú spoluprácu.



Obr. 4. Tvorba prchavých kyselín čistými, zmiešanými a združenými kultúrami kvasiniek  
(označenie variantov 1–16 pozri tabuľku 1)

#### Literatura

- [1] CASTELLI, T.: Les agents de la fermentation vinicole. Arch. Mikrobiol. 20, 1954, s. 223–242.
- [2] LAFON-LAFOURCADE, S., LUCMARET, V., JOYEUX, A.: Efficacité des doubles levains de levures sélectionnées à l'égard des formations d'acidité volatiles en vinification en liquoreux. Rapport des Activités Recherches 1980–1981. Institut d'Oenologie — Université de Bordeaux II, s. 32–34, Talence 1982.
- [3] MINÁRIK, E.: Vplyv čistej kultúry a zmesi čistých kultúr kvasiniek na kvasenie hroznového muštu. Kvas. prům. 11, 1965, č. 4, s. 82–85.
- [4] SCHANDERL, H.: Die Mikrobiologie des Mostes und Weines. E. Ulmer Verlag, Stuttgart 1959.
- [5] ŠESTINOVÁ, O.: Vplyv rastových látok a vitamínov na aktivitu vinných kvasiniek. (Diplomová práca.) Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Bratislava 1982.

Minárik, E., Šestinová, O.: Vplyv zmiešaných a združených kultúr kvasiniek na kvasenie muštu a akosť vín. Kvas. prům., 28, 1982, č. 9, s. 206–209.

Zmiešanou alebo združenou kultúrou *S. rosei* — *S. cerevisiae* alebo *S. rosei* — *S. oviformis* možno pri muštach s vyššou cukornatosťou doceliť hlboké prekvasenie pri nižšej hladine prchavých kyselín v porovnaní s aplikáciou čistej kultúry *S. cerevisiae* alebo *S. oviformis*. Optimálny pomer *S. rosei* : *S. cerevisiae* alebo *S. rosei* : *S. oviformis* pri použití 5% zákvasu má byť 9:1. Výsledky pokusov naznačili možnosť praktickej aplikácie pri kvasení muštov s vyššou cukornatosťou, napríklad vyrobených z botrytických hroznov.

Минарик, Э., Шестинаова, О.: Влияние смешанных и сопряженных культур дрожжей на брожение виноградного сока и на качество вина. Квас. прум. 28, 1982, № 9, стр. 206–209.

При помощи смешанной или сопряженной культуры *S. rosei* — *S. cerevisiae* или *S. rosei* — *S. oviformis* можно для виноградных соков с более высоким содержанием сахара добиться более глубокого брожения при более низком содержании летучих кислот по сравнению с применением чистой культуры *S. cerevisiae* или *S. oviformis*. Оптимальное соотношение *S. rosei* : *S. cerevisiae* или *S. rosei* : *S. oviformis* при использовании 5% закваски следует применить 9:1. Результаты экспериментов показали возможность практического применения при брожении виноградных соков с более высоким содержанием сахара, напр. соков, полученных из ботритического винограда.

Minárik, E., Šestinová, O.: Influence of mixed and associated yeast cultures on fermentation of must and wine quality. Kvas. prům., 28, 1982, No. 9, pp. 206–209.

By the application of mixed or associated cultures *S.*

*rosei* — *S. cerevisiae* or *S. rosei* — *S. oviformis* in the fermentation of must with high sugar content, a more profound sugar fermentation and lower volatil acid formation by yeasts compared with the fermentation of must by one strain yeast starter (*S. cerevisiae* or *S. oviformis*) is achieved. The optimal ratio of *S. rosei* : *S. cerevisiae* or *S. oviformis* should be 9 : 1 using 5 % yeast starter. The results indicate the possibility of practical use in the fermentation of musts with high sugar content produced of botrytized grapes.

**Minárik, E. - Šestínová, O.: Einfluß gemischter und as-**

**soziierter Hefekulturen auf die Mostgärung und Weinqualität.** Kvas. prům., 28, 1932, Nr. 9, S. 206—209.

Mit gemischter oder assoziierter Hefekultur *S. rosei* — *S. cerevisiae* oder *S. rosei* — *S. oviformis* kann bei zuckerreichen Mosten eine gründlichere Zuckervergärung bei niedrigerem Gehalt an flüchtigen Säuren im Wein, verglichen mit der Gärung der Moste mit Reihhefekulturen von *S. cerevisiae* oder *S. oviformis*, erzielt werden. Das optimale Verhältnis von *S. rosei* : *S. cerevisiae* oder *S. rosei* : *S. oviformis* beträgt bei einem 5 % Gäransatz 9 : 1. Die Ergebnisse deuten auf die Möglichkeit einer praktischen Anwendung bei der Gärung zuckerreicher Moste, die aus Botrytis-befallenen Trauben hergestellt wurden, hin.