

Vplyv čistej kultúry a zmesi čistých kultúr kvasiniek na kvasenie hroznového muštu

ERICH MINÁRIK,* Výskumný ústav pre vinohradníctvo a vinárstvo, Bratislava

663.5

Cisté kultúry kvasiniek sa vo vinárstve používajú už niekoľko desaťročí. Je známe, že sa nimi dosieľajú priaznivé výsledky pri kvasení muštu, najmä pokiaľ ide o pravidelnosť a čistotu kvasenia. Priaznivejšia je tiež bilancia tvorby hlavných a vedľajších produktov kvasenia a zpravidla aj organoleptické vlastnosti hotového produktu. Vo vinárskej veľkovýrobe sú dnes čisté kultúry kvasiniek neodmysliteľné. Čoraz viacej vytláčajú neistý spôsob spontánneho kvasenia zaužívaného dosiaľ hlavne v malovýrobných podmienkach.

Okrem čistých kultúr reprezentovaných určitým kmeňom kvasiniek, sa v posledných rokoch odporúčajú pri kvasení muštu zmesné kultúry, pozostávajúce z dvoch alebo viacerých druhov príp. kmeňov kvasiniek [Schanderl 1959, Soós 1954, Castelli 1954]. Zmesné kultúry majú v určitom zmysle nahradí aktivitu kvasiniek spontánneho kvasenia, stelesnenej vo vyšej tvorbe aromatických a chutových látok, ako to tvrdia najmä praktikovia. Používanie zmesi čistých kultúr je teda akýmsi kompromisom medzi používaním čistých kultúr prípravených z jediného kmeňa (rasy) a spontánnym kvasením.

Po teoretickej i praktickej stránke je zaujímavé sledovať, čo sa stane s čistou kultúrou, resp. zmesou kultúrou, po pridaní do muštu, najmä ktorá zložka zmesnej kultúry sa pri kvasení uplatňuje.

* Technicky spolupracoval inž. Ondrej Žipaj.

Doteraz sa všeobecne empiricky predpokladalo, že sa pri kvasení muštu zo zmesi čistých kultúr uplatňuje predovšetkým tá kultúra, ktorej podmienky pre stredia najlepšie vyhovujú a ktorá sa k podmienkam najrýchlejšie prispôsobuje. Preverenie mikrobiologických pomerov v priebehu kvasenia v experimentálnych laboratórnych i prevádzkových podmienkach malo potvrdiť či vyvrátiť do terajšie poznatky v tomto smere.

Materiál a metodika

a) Laboratórne skúšky

K pokusom sa vybrali tieto kultúry:

Druh kvasiniek	Kmeň	Označenie
<i>Saccharomyces oviformis</i>	Bratislava 1	1
<i>Saccharomyces vini</i>	Hlinsk 1	2
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	47/A	3
<i>Torulaspora rosei</i>	13/e	4
<i>Kloeckera apiculata</i>	42/b	5
<i>Candida pulcherrima</i>	27/d	6
Zmes kultúr 1—6		7

Zákvasy sa pripravovali vždy z občerstvenej, 2krát pasážovanej, 3dňovej kultúry, a to v dvoch variáciach pokusov. Pri prvej sa pripravovali zákvasy jednotlivých čistých kultúr v osobitných nádobách a kultúry sa zmiešali až pri zakvasení jednotlivých pokusných sérií muštov. V druhej variá-

Tabuľka 1

Kombinácia	Variácia I		Variácia II	
	A	B	A	B
1 — 2	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 33 % <i>S. oviformis</i> 66 %
1 — 3	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %
1 — 4	<i>S. oviformis</i> 78 % <i>T. rosei</i> 22 %	<i>S. oviformis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %
2 — 3	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %
2 — 4	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %
3 — 4	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %
1 — 2 — 3	<i>S. vini</i> 90 % <i>S. carlsbergensis</i> 10 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %
1 — 2 — 4	—	—	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %
1 — 3 — 4	<i>S. oviformis</i> 78 % <i>S. carlsbergensis</i> 22 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %
2 — 3 — 4	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. carlsbergensis</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %
7	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. vini</i> 100 %	<i>S. oviformis</i> 100 %

Tabuľka 2

Ukazovatele	Pôvodný mušt	K o m b i n á c i e																
		1	1-2	1-3	1-4	2	2-3	2-4	3	3-4	4	1-2-3	1-2-4	1-3-4	2-3-4	5	6	7
Alkohol obj. %	0,40	11,78	11,95	11,78	11,70	11,95	11,63	12,04	11,87	11,87	9,29	11,78	11,95	11,87	11,78	1,83	2,84	11,95
Extrakt g/l	216,6	27,60	30,00	31,80	29,4	29,2	32,80	28,90	30,0	30,2	78,0	29,7	30,0	30,50	31,3	184,8	173,8	30,0
Cukor g/l	194,0	5,6	7,2	7,2	8,0	6,4 - 10,4	6,4	8,0	5,6	53,6	7,2	7,2	4,8	6,4	154,0	140,0	7,2	
Extrakt bez cukru g/l	22,8	22,0	22,8	24,6	21,4	22,8	22,4	22,5	22,0	25,4	45,8	22,5	22,8	25,7	24,9	30,8	33,8	22,8
Titrovat. kyseliny g/l	3,45	4,20	4,35	4,42	4,20	4,35	3,82	4,37	4,05	3,97	3,22	3,75	4,05	3,90	4,12	6,60	3,52	4,65
Prchavé kyseliny g/l	0,09	0,70	0,55	0,41	0,68	0,46	0,23	0,48	0,28	0,32	0,28	0,52	0,52	0,72	0,40	1,74	0,41	0,38

cii pokusov sa kultúry pomiešali už v zákvase, takže pri zakvasovaní pokusných sérií muštov sa použila zmesná kultúra. Prvú sériu pokusov označujeme A, druhú B.

Pri laboratórnych pokusoch sa používal sterálny hroznový mušt pripravený zriedením koncentrovaného (zahusteného) muštu obyčajnou vodou. Prekvasovacie skúšky sa robili v 500 ml kvasných bankách s 250 ml muštu pri 25 °C. Banky sa užívali kvasnými rúrkami naplnenými glycerínom. Všetky variácie kvasných pokusov sa robili v 3 opakovaniach, pritom jedno opakovanie slúžilo na štúdium vývinu mikroflóry v priebehu kvasenia, dve opakovania na sledovanie kvasného procesu a chemický rozbor. Kvasinky boli reizolované vždy v 7. deň kvasenia (fáza búrlivého kvasenia) a v 29. deň (fáza dokvášania). Z každej vzorky bolo počas kvasenia izolovaných priemerne 13 až 14 kmeňov kvasiniek, ktoré sa určovali podľa Lodderovej a Kreger van Rijovej (1952) na základe morfológických znakov a kvasných a asimilačných testov. Rýchlosť kvasenia sa posudzovala podľa množstva CO₂, uvoľneného pri kvasení a stanoveného denným väžením kvasných baniek s presnosťou ± 0,02 g.

Pri pokusoch sa použilo vždy 2 % zákvasu počítané na objem muštu. Pri zmesných kultúrach bol každý druh zastúpený alikvotným pomerom tak, že celkový objem zákvasu bol 2 % množstva muštu.

b) Prevádzkové skúšky

Laboratórne pokusy sa overovali v prevádzkových podmienkach Štátneho majetku v Želiezoviciach, oddelenie Šalov. Použil sa mušt Veltlínske zelené roč. 1962 s 226,6 g/l redukujúcich cukrov, 8,1 g/l titrovateľných kyselin a pH 3,1. Egalizovaný mušt bol po zasírení 30 mg/l celkového SO₂ pretočený do 11 sudov o objeme asi 5 hl a zakvasený 2 % zákvasu čistých kultúr alebo zmesi čistých kultúr. Zákvasy boli pripravené vždy oddelene, čo odpovedalo sérii A laboratórnych pokusov. Kvasenie prebiehalo pri teplote pivnice (13 až 14 °C). K pokusom sa použili tieto kultúry:

Druh kvasiniek	Kmeň	Označenie
<i>Saccharomyces vini</i>	Hliník 1	a
<i>Saccharomyces oviformis</i>	Bratislava 1	b
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	47/A	c
—		Spontánne kvasenie d
<i>Sacch. vini</i> + <i>Sacch. oviformis</i>	Hliník 1 + Bratislava 1	e
<i>Sacch. vini</i> + <i>Sacch. carlsbergensis</i>	Hliník 1 + 47/A	f
<i>Sacch. oviformis</i> + <i>Sacch. carlsbergensis</i>	Bratislava 1 + 47/A	g
<i>Sacch. vini</i> + <i>Sacch. oviformis</i> + <i>Sacch. carlsbergensis</i>	Hliník 1 + Bratislava 1 + 47/A	h
<i>Sacch. vini</i> + <i>Sacch. carlsbergensis</i> + <i>T. rosei</i>	Hliník 1 + 47/A + 13/e	i
<i>Sacch. vini</i> + <i>Sacch. oviformis</i> + <i>T. rosei</i>	Hliník 1 + Bratislava 1 + 13/e	j
<i>Sacch. oviformis</i> + <i>Sacch. carlsbergensis</i> + <i>T. rosei</i>	Hliník 1 + 47/A + 13/e	k

Výsledky a zhodnotenie

V tabuľke 1 sú zhrnuté výsledky reidentifikácie kvasiniek v priebehu kvasenia sterálneho muštu zmesou čistých kultúr. U variácií pokusov A (zákvasy jednotlivých čistých kultúr pripravované samostatne, zmiešané až tesne pred zakvasením muštu) dominujú v prostredí tie druhy, ktoré sa najrýchlejšie rozmnožujú na začiatku kvasenia (*Sacch. vini*, *Sacch. carlsbergensis*). Dokvášajúce kvasinky (*Sacch. oviformis*) sa uplatňujú len v kombinácii s *T. rosei*. Pri ostatných kombináciach boli *Sacch. oviformis* väčšinou úplne potlačené už počas búrlivého kvasenia. Podľa Tjurinovej (1964) sú *Sacch. oviformis* potlačené pôvodnou mikroflórou muštu, ak sa nedodržia určité podmienky, napr. včasné zakvasenie, dôkladné zamiešanie zákvasu do muštu, primerané predbežné sírenie atď. Kvasinky *T. rosei* boli vo všetkých prípadoch veľmi skoro potlačené sacharomycétami, ktoré sa vyznačujú vyššou množiacou energiou a odolnosťou voči tvoriačemu sa alkoholu. Pri kombinácii *Sacch. vini* + *Sacch. carlsbergensis* a *Sacch. oviformis* + *Sacch. carlsbergensis* prevládajú skoro vždy spodné pivovarské kvasinky, jedine pri kombinácii

Sacch. vini + *Sacch. oviformis* + *Sacch. carlsbergensis* nadobúdajú prevahu *Sacch. vini*.

Pri variácii pokusov B (čisté kultúry zmiešané už v zákvase) uplatňuje sa zväčša druh (kmeň) s najvyššou odolnosťou voči alkoholu a s výrazne dokvášajúcim charakterom. Pri kombinácii *Sacch. vini* + *Sacch. oviformis* alebo *Sacch. oviformis* + *Sacch. carlsbergensis* sa v pokročilejšom štádiu kvaseňia dajú izolovať väčšinou *Sacch. oviformis*, pri kombináciach *Sacch. vini* + *Sacch. carlsbergensis* prv menovaný druh. *T. rosei* sa ani v jednom prípade neuplatnili; boli potlačené už v prvej fázi kvasenia.

Najhlbšie prekvasenie cukru sa po 4 týždňoch pri variácii pokusov A pozorovalo u muštov kvasených *Sacch. vini*, *S. oviformis* alebo ich kombináciami. Najslabšie kvasili mušty s *C. pulcherrima*, *Kl. apiculata* a *T. rosei*. Najmenej prchavých kyselín produkujú *T. rosei* a *Sacch. carlsbergensis*, najviac *Kl. apiculata* (tabuľka 2). Hladina alkoholu po dokvasení muštu bola pomerne vyrovnaná. Ak odhliadneme od muštov kvasených *T. rosei*, *Kl. apiculata* a *C. pulcherrima*, rozdiely boli max. 0,41 obj. % alkoholu. Najrýchlejší priebeh kvasenia muštu sa zaznamenal u čistých kultúr *Sacch. carlsbergensis* a *Sacch. oviformis* a pri kombinácii týchto druhov so *Sacch. vini*. Najpomalšie kvasili mušty s *Kl. apiculata*, *C. pulcherrima* a *T. rosei*.

Pri variácii pokusov B bol cukor po 4 týždňoch najhlbšie prekvasený pri použití zmesných kultúr.

Mušty kvasené čistou kultúrou vykazovali menší zvyšok cukru (5,4 až 6,8 g/l). Najviac neskvaseného cukra vykazovali opäť mušty kvasené s *Kl. apiculata* a *C. pulcherrima*. Najnižšiu hladinu prchavých kyselín vykazovali skvasené mušty pri použití zmesných kultúr, menovite s *T. rosei* (tabuľka 3).

Výsledky prevádzkového pokusu sú zhrnuté v tabuľke 4. Ukázalo sa, že v prípadoch, kde sa aplikovala čistá kultúra, sa pred skončením kvasenia mohol izolovať prakticky len použitý druh kvasniek. Pri použití zmesných kultúr v kombináciach *Sacch. vini* + *Sacch. oviformis* + *Sacch. carlsbergensis* prevládali úplne *Sacch. vini* a *Sacch. carlsbergensis*. Tieto nálezy o potlačení *Sacch. oviformis* sú v súlade s výsledkami laboratórnych pokusov ako aj s už uvedenými údajmi *Tjurinovej* (1964). Zo spontánne kvasiaceho vína boli izolované výlučne *Sacch. vini* a *Sacch. oviformis*. Oba druhy tvoria dominantný podiel mikroflóry samovoľne kvasiacich vína v ČSSR (Minárik 1964).

Najhlbšie prekvasenie sa dosiahlo u vín kvasených zmesou kultúr *Sacch. oviformis* + *Sacch. carlsbergensis* + *T. rosei*, *Sacch. vini* + *Sacch. carlsbergensis* + *T. rosei* a *Sacch. vini* + *Sacch. oviformis* + *T. rosei*. Tieto vína vykazovali aj veľmi dobré organoleptické vlastnosti, hlavne vynikajúcu zladenosť chutových a vonných zložiek vína. Vína kvasené čistou kultúrou boli sice takisto chutove pomerne dobre vyrovnané, vykazovali však nižšiu

Tabuľka 3

Ukazovatele	Pôvodný muš	Kombinácie															7	
		1	1-2	1-3	1-4	2	2-3	2-4	3	3-4	4	1-2-3	1-2-4	1-3-4	2-3-4	5	6	
Alkohol obj. %	0,33	12,29	12,29	12,47	12,55	12,04	12,55	12,64	12,29	12,73	12,38	12,55	12,38	12,64	12,64	3,68	3,76	12,47
Extrakt g/l	226,5	31,5	32,6	31,8	32,0	31,8	32,0	32,6	31,5	32,3	31,8	31,8	32,0	32,3	31,8	132,3	132,6	31,5
Cukor g/l	206,8	5,4	1,0	0,8	1,0	6,8	1,2	1,2	5,4	1,0	5,8	1,0	1,0	1,0	1,0	133,3	133,0	1,0
Extrakt bez cukru g/l	19,7	28,1	31,6	31,0	31,0	25,0	30,8	31,4	28,1	31,3	28,0	30,8	31,0	31,3	30,8	153,0	153,0	30,5
Titrovat. kyseliny g/l	3,45	4,5	4,9	3,9	3,8	4,3	4,0	3,7	3,9	3,7	5,1	4,2	4,9	4,0	4,1	4,9	4,3	3,9
Prchavé kyseliny g/l	0,12	1,33	0,35	0,53	0,43	0,40	0,50	0,46	0,61	0,35	0,49	0,54	0,38	1,03	0,44	1,80	0,36	0,56

Tabuľka 4

Ukazovatele	Číslo pokusu [označenie]										
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
Špec. váha	0,9904	0,9923	0,9922	0,9923	0,9911	0,9918	0,9918	0,9911	0,9909	0,9912	0,9908
Alkohol obj. %	13,07	12,99	13,07	13,18	13,51	13,18	13,07	13,51	13,60	13,43	13,77
Extrakt g/l	19,6	23,7	23,7	24,2	22,7	23,7	22,4	22,4	21,6	22,4	21,6
Cukor g/l	1,2	1,4	1,5	1,8	1,3	1,5	1,4	1,4	1,6	1,6	1,6
Extrakt bez cukru g/l	18,4	22,3	22,2	22,8	21,4	22,2	21,0	21,0	20,0	20,8	20,0
Titr. kys. g/l	6,4	8,7	8,3	9,3	7,7	7,4	7,6	7,4	7,3	7,6	7,3
Prch. kys. g/l	0,41	0,46	0,36	0,35	0,35	0,42	0,37	0,35	0,42	0,42	0,36
Neprch. kys. g/l	5,9	8,1	7,9	8,9	7,3	6,9	7,1	7,0	6,8	7,1	6,9
Extr. zvyšok g/l	12,5	14,2	14,3	13,7	14,1	14,3	13,9	14,0	13,2	13,7	11,1
Izolované kvasinky	1	2	3	1+2	1	1+3	3	1+3	1+3	1	3

hladinu alkoholu, podobne ako spontánne kvasené víno.

Súhrn

Pri aplikácii zmesných kultúr kvasiniek, pripravovaných oddelene v osobitných zákvashoch, sa pri kvasení sterilného hroznového muštu uplatňujú predovšetkým kvasinky, ktoré sa rýchlejšie rozmnožujú na začiatku kvasenia (*Saccharomyces vini*, *Saccharomyces carlsbergensis*). *Saccharomyces oviformis* nadobúdajú prevahu v muštoch, ktoré sa zakvasili zmesou kultúrou pripravenou v spoločnom zákvase. Pri kvasení nesterilného muštu v prevádzke čistou kultúrou sa pri použití dostatočného zákvasu (2 %) uplatňuje pri kvasení zpravidla použitý druh (kmeň) kvasiniek. Pri použití zmesi čistých kultúr nadobúda prevahu podľa použitej kombinácie

**ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ОДНОЙ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ,
ИЛИ КОМБИНАЦИИ НЕСКОЛЬ-
КИХ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР
ДРОЖЖЕЙ НА ХОД СБРАЖИ-
ВАНИЯ ВИНОГРАДНОГО
СУСЛА**

При добавке в стерильное виноградное сусло смеси чистых дрожжевых культур, разведенных предварительно в индивидуальных заквасках, максимальную деятельность развивают в первых фазах сбраживания семейства дрожжей способных быстро размножаться, к каким относятся напр. *Sacch. vini*, *Sacch. carlsb.* Наиболее удовлетворительные результаты были получены при применении следующей комбинации: *Sacch. oviformis*, *Sacch. vini*, *Sacchar. carlsb.*, *Torulaspora rosei*.

EINFLUSS DER REINEN HEFEKULTUR UND HEFEKULTUR- MISCHUNG AUF DIE TRAUBENMOSTGÄRUNG

Bei der Applikation von Hefe-Mischkulturen, die in separaten Angärungen vorbereitet wurden, kommen bei der Gärung von steriles Traubennost hauptsächlich diejenigen Hefen zur Geltung, die sich am Anfang des Gärprozesses schneller vermehren (*Sacch. vini*, *Sacch. carlsb.*). Aus den verschiedenen erprobten Mischkulturkombinationen bewährte sich am besten die Kombination *Sacch. vini*, *Sacch. oviformis* und *Sacch. carlsberg.* mit *Torulaspora rosei*.

väčšinou *Saccharomyces vini* alebo *Saccharomyces carlsbergensis*, ak sa zákvasy jednotlivých čistých kultúr pripravili oddelene. Zo spontánne kvasených vín možno izolovať *Saccharomyces vini* alebo *Saccharomyces oviformis*. Z rôznych kombinácií zmesi čistých kultúr sa najlepšie osvedčili kombinácie *Saccharomyces vini*, *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces carlsbergensis* s *Torulaspora rosei*.

Literatúra

- [1] Castelli, T.: Les agents de la fermentation vinaire. = „Archiv für Mikrobiologie“, **20** 1954 : 323.
- [2] Minárik, E.: Die Heißflora von Jungweinen in der Tschechoslowakei. = „Mitteilungen Klosterneuburg“, Serie A, **14**, 1964 : 306.
- [3] Schanderl, H., Die Mikrobiologie des Mostes und Weines, Stuttgart 1959.
- [4] Soós, I.: Borászati mikrobiológia, Budapest 1954.
- [5] Tjurina, L. V.: Drožzi vida S. oviformis v šampaňskom proizvodstve. = „Vinodelie i vinogradarstvo SSSR“, **4**, 1964 : 15.

Došlo do redakce 19. 11. 1964.

COMPARISON OF MUST FERMENTING PROCESSES EMPLOYING SINGLE PURE YEAST CULTURE WITH PROCESSES EMPLOYING VARIOUS COMBINATIONS OF SEVERAL PURE CULTURES

If several, different pure yeast cultures cultivated in separate inocula are introduced at a time into sterile musts, the first stages of fermentation are characterized by intensive activity of yeast families capable of vigorous multiplication, as e. g. *Sacch. vini*, *Sacch. carlsb.* The best results were achieved with the following combination of families: *Sacch. vini*, *Sacch. oviformis*, *Sacch. carlsb.* and *Torulaspora rosei*.