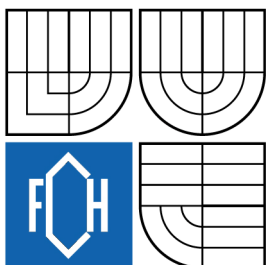




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

EKOLOGICKÁ PRODUKCE HROZNŮ A VÝROBA VÍNA

THE ECOLOGICAL GRAPE AND WINE PRODUCTION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

JANA KALÁBOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

doc. Ing. JIŘINA OMELKOVÁ, CSc.

BRNO 2011



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0596/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Jana Kalábová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)	
Vedoucí práce	doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Ekologická produkce hroznů a výroba vína

Zadání bakalářské práce:

- 1) Vypracujte literární přehled k dané problematice
- 2) Popište použité metody hodnocení
- 3) Zpracujte naměřené výsledky z experimentů
- 4) Zhodnoťte získané výsledky formou diskuse

Termín odevzdání bakalářské práce: 6.5.2011

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Jana Kalábová
Student(ka)

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Teorie bakalářské práce je zaměřena na technologické postupy výroby vína a v současnosti velmi vyspělou ekologickou produkci vín. Popisuje principy ekologického zemědělství a způsob ekologického pěstování révy vinné. Dále podává základní informace o révě vinné, která je důležitou surovinou pro výrobu vína. Poukazuje též na moderní ochranu ekologicky pěstovaných rostlin před houbovými chorobami a škůdci.

Cílem experimentální části bylo zkoumání účinků vodného extraktu ze sušené šalvěje lékařské na růst jednotlivých mikroorganismů. Šalvěj lékařská obsahuje ochranné látky, účinné v prevenci boje proti škůdcům. Ze získaných výsledků vyplývá, že extrakt ze stonků vykazoval inhibiční účinek u některých vybraných mikroorganismů, ale u extraktů z listů nebyla inhibice prokázána.

ABSTRACT

The bachelor's thesis is focused on technological processes of production of wine and now very mature producing organic wines. It describes the principles of organic farming and organic way of growing grapes. It provides basic information about grape vine, which is an important raw material for wine production. It refers also to the modern protection of ecologically grown plants from fungal diseases and pests.

The aim of the experimental part was to examine the effects of aqueous extract of dried sage to the growth of microorganisms. Sage contains protective substances effective in preventing pest. The results showed, that the extract from the stems showed inhibitory effects on some selected microorganisms, but extracts from the leaves did not show inhibition.

KLÍČOVÁ SLOVA

ekologický, víno, technologie, alkoholové kvašení, mikroflóra vína, extrakt

KEYWORDS

ecological, wine, technology, alcoholic fermentation, microflora of wine, extract

KALÁBOVÁ, J. *Ekologická produkce hroznů a výroba vína*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 44 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem citoval správně a úplně. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala paní doc. Ing. Jiřině Omelkové, CSc. za ochotu, laskavost, odborné a cenné rady, které mi usnadnily vypracování této bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ.....	8
2.1. Historie ekologického zemědělství	8
2.2. Přirozené mechanismy EZ	8
2.3. Efektivita EZ	9
2.4. Cíle EZ	9
2.5. Bioprodukty	9
2.6. Bioznačky.....	9
2.7. Výhody ekologického zemědělství	10
3. BIOPROSTŘEDKY NA OCHRANU ROSTLIN	11
3.1. Metody nepřímé ochrany	11
3.2. Metody přímé ochrany	12
3.2.1. Biologické metody.....	12
3.2.2. Mechanické metody.....	13
3.2.3. Minerální přípravky a přípravky na bázi sloučenin mědi a síry.....	13
3.2.4. Zelené hnojení	13
3.2.5. Rostlinné hnojení	13
4. VÝROBA VÍNA	14
4.1. Vinná réva – základní surovina pro výrobu vína	14
4.1.1. Původ a popis	14
4.1.2. Složení bobule hroznů	14
4.1.2.1. <i>Třapiny</i>	14
4.1.2.2. <i>Bobule</i>	14
4.1.3. Růst a zrání hroznů	15
4.1.3.1. <i>Konzumní zralost</i>	15
4.1.3.2. <i>Technologická zralost</i>	16
4.1.4. Sklizeň hroznů	16
4.2. Technologické postupy u výroby vína	16
4.2.1. Drcení a odzrňování.....	16
4.2.2. Nakvašení rmutu.....	16
4.2.3. Lisování	17
4.2.4. Úprava révového moštu	17
4.2.4.1. <i>Úprava cukernatosti</i>	17
4.2.4.2. <i>Odkyselování</i>	17
4.2.4.3. <i>Síření</i>	17
4.2.4.4. <i>Odkalování</i>	18
4.2.4.5. <i>Provzdušnění</i>	18
4.2.5. Kvašení moštu	18
4.2.6. Mikrobiologie kvašení	19
4.2.7. Zrání	20
4.2.8. První stáčení vína.....	20
4.2.9. Druhé stáčení vína	20
4.2.10. Školení vína	21
4.2.10.1. <i>Scelování</i>	21
4.2.10.2. <i>Číření</i>	21
4.2.10.3. <i>Filtrace</i>	21
4.2.10.4. <i>Stabilizace</i>	21
4.3. Víno z ekologicky pěstovaných hroznů	21
4.3.1. Ekologické víno	22
4.3.2. Zpracování ekologicky pěstovaných hroznů	22

5. MIKROFLÓRA VÍNA	23
5.1. Kvasinky a kvasinkové mikroorganismy	23
5.1.1. Přírodní stanoviště kvasinek	23
5.1.2. Morfologie kvasinkových buněk	23
5.1.3. Populace kvasinek v moštu.....	24
5.1.4. Populace kvasinek ve víně.....	25
5.2. Bakterie	25
5.2.1. Ekologie mléčných bakterií	25
5.2.2. Systematika bakterií	25
5.2.3. Morfologie buněk bakterií.....	26
5.2.4. Změny ve víně způsobené činnostmi bakterií.....	27
5.3. Plísňe.....	27
5.4. Interakce mikroorganismů ve víně.....	28
5.4.1. Interakce mezi kvasinkami a vláknitými houbami	28
5.4.2. Interakce mezi kvasinkami	28
5.4.3. Interakce mezi kvasinkami a bakteriemi.....	29
6. CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH MIKROORGANISMŮ	30
6.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
6.2. <i>Cryptococcus laurentii</i>	31
6.3. <i>Pichia fermentans</i>	31
6.4. <i>Candida stellata</i>	32
6.5. <i>Hanseniaspora uvarum</i>	32
6.6. <i>Rhodotorula glutinis</i>	33
7. CHARAKTERISTIKA ŠALVĚJE LÉKAŘSKÉ (<i>Salvia officinalis</i>)	34
7.1. Původ a rozšíření.....	34
7.2. Botanický popis.....	34
7.3. Užití.....	35
8. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
8.1. Použité přístroje	36
8.2. Použité chemikálie	36
8.3. Kultivační média a jejich příprava	36
8.3.1. Médium pro kultivaci a uchování kvasinek	36
8.4. Postup stanovení	36
8.4.1. Použité metody a postupy práce	36
8.4.2. Příprava extraktů.....	37
8.4.2.1. Příprava vodného extraktu ze sušené šalvěje lékařské	37
8.4.2.2. Postup stanovení inhibičního účinku – diskový test.....	37
9. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	38
9.1. Inhibiční účinky vodného extraktu ze šalvěje lékařské.....	38
10. ZÁVĚR.....	40
11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41
12. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	44

1. ÚVOD

Víno patří mezi oblíbený, alkoholický a nejstarší nápoj světa, který je vyráběn prokvašením rmutu révy vinné. Obsahuje řadu léčivých látek, známé už několik tisíc let. Produkce vín je neustále zdokonalována a vylepšována nejnovějšími technologiemi zpracování hroznů. V Evropě se úspěšně rozvíjí integrované hospodářství, které se nachází mezi konvenční a ekologickou produkcí. V současnosti je vyvíjen stále větší tlak na ochranu životního prostředí od zemědělců a okolí, což vede k používání mnohem šetrnějších metod v zemědělství. Mnoho zemědělců projevuje tedy zájem o ekologickou produkci, která přechází z integrovaného zemědělství. V ekologickém zemědělství jsou zakázány syntetické přípravky, nepoužívají se šlechtěné kvasinky, enzymy ani stabilizační látky. Jsou dovoleny přípravky založené na přírodní bázi, které jsou ohleduplné k životnímu prostředí, podporují a udržují zdravou půdu, s cílem zvýšit mikrobiální aktivitu, zabránit erozi půdy a znečištění vod chemikáliemi. Bohatší půdní život umožňuje, aby se do hroznů dostalo více látek, které obohatí a podtrhnou chuť a charakter vín jednotlivých odrůd.

Samotné organické víno je vyráběné šetrněji než víno vyráběné konvenční cestou. Biovíno je víno vyrobené z ekologicky pěstovaných hroznů podle pravidel ekologického zemědělství. Neobsahuje chemická rezidua, jde zcela o přírodní víno. Každý bioprodukt ekologického zemědělství je označen grafickou ochrannou známkou BIO tzv. zelenou zebrou a kódem příslušné kontrolní organizace KEZ CZ, Biokont CZ a ABCERT CZ.

Ekologické zemědělství se v České republice pozvolna rozvíjí. Pomalu se zvyšuje počet ekofare, který se v současné době pohybuje kolem 2 500. V současné době se u nás takto hospodaří na téměř 350 000 ha půdy a podíl ekologického zemědělství na celkové výměře zemědělské půdy přesahuje 9 %. Dnešní ekologické zemědělství je vyspělé, klade se větší důraz na lepší kvalitu hroznů, proto se zemědělci snaží neustále zdokonalovat ochranu ekologických vinic. Trh s ekologickými víny roste úspěšně nahoru. O moravská biovína je stále větší zájem spotřebitelů, každým rokem je poptávka vyšší o 10 %. [35]

2. EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ

Ekologické zemědělství (dále EZ) představuje systém hospodaření, který používá pro životní prostředí (dále ŽP) šetrné způsoby k potlačení plevelů, škůdců a chorob. Je založeno jednak na využívání spontánních přírodních procesů recirkulace a obnovitelnosti zdrojů, ale také na moderních agrotechnických metodách. Dbá na celkovou harmonii agroekosystému a jejich biologickou rozmanitost. Zakazuje použití nejrůznějších chemických prostředků, tedy žádné syntetické pesticidy např. herbicidy, fungicidy, průmyslová hnojiva apod. Dále se nesmí při produkci biopotravin používat hormony, minerální hnojiva, geneticky modifikované organismy a při dalším zpracování nesmí být uměle prodlužována jejich trvanlivost a chemicky zlepšována barva, chuť či vůně. [1,2]

V České republice je systém EZ definován platnou legislativou: Zákon 242/2000 Sb. A Nařízení Rady 2092/91, dodržování těchto právních předpisů je kontrolováno akreditovanými kontrolními organizacemi KONTROLA EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ CZ, BIOKONT CZ a ABCERT CZ. Na základě kladného výsledku na vinici, při zpracování expedici může být výrobek označen ochranným logem BIO-Produkt ekologického zemědělství. [1]

2.1. Historie ekologického zemědělství

Počátky ekologického pěstování révy vinné nalezneme v 50. letech v oblastech Švýcarska a Německa. Avšak první, větší vinice zaměřené na výrobu ekologického vína byly až v 70. letech. Kvalita nebyla nijak vysoká, což bylo způsobeno nevědomostí tehdejších vinařů. Postupem času však docházelo k rozvoji a pokroku výroby ekologických vín. [4]

V České republice (dále ČR) se začalo s ekologickým pěstováním hroznů mnohem později. Ekologické vinařství se u nás objevilo v roce 1990, kdy tuto pokrokovou metodu hospodaření, která staví na tisíciletých zkušenostech našich předků, používalo jen velmi málo ekofarem. Zatím v ČR existuje pár producentů, proto většina ekologických vín pochází především z Itálie, Německa, Rakouska nebo Španělska. Avšak do konce roku 2004 nastalo výrazné navýšení a to o několik stovek ekofarem. [3]

Technologie zpracování hroznů dosahuje stále vyšší úrovně, která je srovnatelná s vyspělými státy. Dnes se řadí k nejrychleji se rozvíjejícím segmentům na Evropském trhu, čímž vzrůstá zájem o moravská vína. [4]

2.2. Přirozené mechanismy EZ

V EZ se upřednostňují postupy, při nichž se využívají přirozené mechanismy a vychází se z přirozených vztahů v přírodě. Při pěstování révy vinné jsou pesticidy nahrazeny dravými roztoči, sluněčky a dalším hmyzem, který udržuje zdravou rovnováhu ve vinici. Jako rostlinné hnojivo slouží rostlinné zbytky, které se zapracovávají do půdy. Dále jsou povoleny přírodní sloučeniny mědi a síry proti plísním a padlí. [5]

V současnosti existuje mnoho propracovaných metod, jak bojovat účinně proti škůdcům. Metody jsou založené poměrně na jednoduchých látkách např. rostlinné oleje, výtažky z rostlin, speciální horniny, které navazují obranyschopnost reakcí rostlin. Zdravá a úrodná půda se udržuje pomocí zeleného hnojení nebo pestrými osevními způsoby. Povoleno je i

používání obilného lepku, přírodních kyselin a rostlinných olejů. Pro posílení přirozené odolnosti rostlin se používají přípravky na bázi křemíku a vápníku. [6]

2.3. Efektivita EZ

Ekologicky hospodařící zemědělci nepoužívají látky a postupy znečišťující a zatěžující přírodu, takže nezamožují půdu, vodu, vzduch ani rostlinstvo a zvířectvo, včetně člověka, syntetickými chemikáliemi. Biovinářství podporuje biodiverzitu, dbá na úrodnost a kvalitu půdy, která umožňuje révě vinné dostupnost na bohatší látky, které dodávají vínu lepší chuť a nezaměnitelný charakter. Využívá se ozeleněné meziřadí, půda v jejich vinohradech má lepší strukturu, lépe odolává erozi a je bohatší o minerály a mikrobiální život. Z ekologických vinogradů nedochází k vyplavování umělých hnojiv a pesticidů, které by znečistily vodní zdroje. EZ je energeticky efektivnější, protože nevyužívá agrochemikálie, jejichž produkce je vysoce energeticky náročná. V EZ zpravidla postačují 1 – 3 aplikace povolenými přípravky, v konvenčním vinařství je potřeba až 8 aplikací chemických postřiků za sezónu. [2,3,7]

2.4. Cíle EZ

Cílem EZ je udržet a zlepšit úrodnost, kvalitu a biologickou aktivitu půdy po delší dobu. Dále využít všechnen odpad z produkce zemědělství pro výrobu organických hnojiv. Péče o přirozený ekosystém vinohradu a vytvářet podmínky pro život různých živočichů. Produkce kvalitních biopotravin o vysoké nutriční hodnotě, chránit ŽP a jeho zdroje a vytvářet harmonický soulad s krajinou. Vytvořit potřebné podmínky pro chov hospodářských zvířat, které odpovídají jejím potřebám a etickým zásadám. Respektování místních, ekologických, klimatických a zeměpisných rozdílů a využívání praktik a postupů vyvinutých v jejich důsledku. [3]

2.5. Bioprodukty

Biopotravina je finálním produktem EZ, to znamená, že je vyrobená ze surovin rostlinného a živočišného původu, pěstovaných, chovaných a zpracovaných podle zákona o EZ. Biopotravina musí samozřejmě splňovat i všechny požadavky na bezpečnost a zdravotní nezávadnost podle zákona o potravinách. Právě a certifikované výrobky jsou označeny grafickou ochrannou známkou BIO a kódem příslušné organizace. Tato známka zaručuje spotřebiteli, že produkty pocházejí z kontrolovaného systému EZ a byly osvědčeny oprávněným certifikačním orgánem. [2,3]

2.6. Bioznačky

Biopotraviny kontrolované v ČR jsou charakterizovány BIO logem tzv. zelenou zebrou (*obrázek č. 1*). Bioprodukty vyráběné v Evropské unii mají kromě loga národních kontrolních organizací či svazů ekologických zemědělců také logo biopotravin EU (*obrázek č. 2*), které je od roku 2010 povinné. [2]



Obrázek č. 1: Značka bioproduktu – logo zelená zebra [2]



Obrázek č. 2: Značka bioproduktu pro EU [2]

2.7. Výhody ekologického zemědělství

Celkově můžeme říci, že suroviny vyráběné na základě ekologického zemědělství mají lepší prostředí pro svůj růst. Půdy EZ mají lepší strukturu, tolik nepodléhají zhutnění a erozi. Ekologické sady a vinice jsou více zatravněné, půda je tak chráněna před nepříznivým působením slunce, vyplavováním živin a erozí. Díky speciálním způsobům techniky hnojení v EZ (zelené hnojení, komposty) nedochází k znečištění podzemní vody dusíkem. Na půdách žije o mnoho více užitečných organismů, kteří se živí škůdci např. střevlící, drabčíkovití brouci. Najdeme zde také o 50 % více žížal, které zlepšují řadu půdních vlastností a jsou důležité pro agroekologii. V ekologických sadech se zakládají speciální kvetoucí pásy, čímž se v sadu vyskytuje 4 – 6krát více přirozených nepřátel mšic, které snižují škody na stromech a plodech. [1]

Z energetického hlediska je EZ mnohem výhodnější, výdej je o 30 – 50 % nižší než u integrovaného zemědělství. Ekologicky obhospodařovaná půda také pomáhá ke stabilitě klimatu. Ukládá totiž větší množství uhlíku do humusu, čím se omezuje růst atmosférického oxidu uhličitého a umožňuje stabilitu klimatu. [1]

3. BIOPROSTŘEDKY NA OCHRANU ROSTLIN

Ekologickými nebo také biologickými přípravky (biopesticidy) na ochranu rostlin se rozumí přípravky šetrné k ŽP, užitečným organismům a dostatečně účinné proti cílovým škůdcům. Seznam registrovaných přípravků na ochranu rostlin pro použití v zemědělské praxi schvaluje a vydává Státní rostlinolékařská správa (SRS). Tyto prostředky zlepšují zdravotní stav rostlin, zvyšují jejich přirozenou obranyschopnost vůči patogenům a zajišťují komplexní ochranu s vysokou účinností. Bioprostředky splňují náročné požadavky na moderní ochranu před houbovými chorobami v organickém a integrovaném hospodářství. [8,9]

Tabulka č. 1: Požívané prostředky v ekologickém zemědělství [9,10]

Název přípravku	Dávka/ha	Účinné látky		Způsob ochrany
Mycosin Vin	3 – 8 kg/ha	kvasinky + přeslička + šalvěj + síran hlinitý	100 + 10 + 40 + 740 g/kg	Prostředek pro zvýšení rezistence rostlin proti houbovým a bakteriálním chorobám
VitiSan	8 – 10 kg/ha	hydrogenuhličitan draselný	1000 g/kg	Prevence pro zvýšení ochrany proti padlí, plísni šedé a révy vinné
HF – Mycol (EC)	2 – 2,5 l/ha	fenyklový olej	230,8 g/kg	Ochranné ošetření proti padlí a plísni šedé na révě vinném, drobném ovoci, okurkách, salátů a růží
Aqua Vitrin K	2,5 l/ha	Vodné sklo draselné	285 g/l	Prevence pro zvýšení ochrany proti padlí, plísni šedé, spále červené a bílé hnilobě na révě vinné
Alginure	3 – 5 l/ha	výluh z mořských řas, rostlinné aminokyseliny, algináty, fosfonáty	–	Prostředek pro posílení odolnosti vůči houbovým chorobám
Oikomb	2,5 l/ha (0,25 – 0,75 % roztok) vodního skla + 2,5 l/ha (0,25 – 0,75 % roztok) HF	vodní sklo – 8,5 % a SiO ₂ – 20 %, fenyklový olej a další rostlinné extrakty	–	Preventivní pomocný prostředek pro zvýšení odolnosti rostlin proti padlí a plísni šedé na révě vinné

3.1. Metody nepřímé ochrany

Důraz je kladen především na prevenci, která zabezpečuje vyrovnanou výživu pěstováním vhodných odrůd a pěstitelskými technologiemi. Nepřímé metody vytváří nepříznivé prostředí pro rozvoj škodlivých organismů a mají preventivní charakter. Rostliny zabezpečené vhodnými podmínkami odolávají lépe napadením škůdců. Pěstované plodiny jsou ovlivňovány volbou stanoviště (nadmořská výška, půda, klimatické podmínky, reliéf krajiny). [11]

3.2. Metody přímé ochrany

Mezi přímou ochranu rostlin se řadí jak biologické způsoby, tak i mechanické a termické. Používají se minerální a rostlinné přípravky a nejrůznější prostředky založené na základě jednoduchých sloučenin síry a mědi.

3.2.1. Biologické metody

Biologická ochrana rostlin je využití přirozených antagonistů škodlivých organismů v oblasti pěstování rostlin. Jde o záměrnou produkci, aplikaci a podporu užitečných organismů a jejich využití při omezování škodlivých organismů rostlin. Celkově jsou na světě v současné době k dispozici prostředky využívající téměř sto druhů a kmenů mikroorganismů (dále MO), více než padesát druhů makroorganismů, asi padesát druhů přírodních produktů. [12]

Rozdělení podle typu biologického přípravku:

1) Mikrobiální – využívání MO (bakterie, houby, řasy, prvoci), které se uplatňují při regulaci chorob, živočišných škůdců rostlin a plevelů. Způsobem aplikace jsou často podobné konvenčním přípravkům. Využívají se jak živé MO, které se v porostu dále množí nebo se užívá různých metabolitů, které zneškodní, či omezí vývoj škodlivých organismů. [12]

2) Přípravky na základě makroorganismů (Parazitoidi z kmene členovců (*Arthropoda*)). Využívá se různých druhů aplikací. Z hlediska biologického zařazení sem patří velké množství bezobratlých živočichů (např. hlístice). Aktivně reagují na prostředí a přítomnost potenciálních hostitelů a regulují především živočišné škůdce, kteří poškozují rostliny nebo rostlinné produkty. [12]

Ve vinařství se hojně využívají dravý roztoči např. *Typhlodromus pyri* proti fytofágním roztočům (svilušky, hálčivci). Často jsou zde využívány mikrobiální přípravky proti obalečům a dalším motýlím škůdcům (*Bacillus thuringiensis*, var. *kurstaki*). [12]

Tabulka č. 2: Využití biologické ochrany ve vinohradech [12]

Účinný organismus	Název produktu	Škůdce/choroba
<i>Bacillus thuringiensis</i> ssp. <i>kurstaki</i>	Biobit XL, WP	Obaleč jednopásou, obaleč mramorový, obaleč jablečný, píďalka podzimní, bekyně zlatořitná, bourovec prsténčivý, bělásek ovocný, přástevníček americký
<i>Bacillus thuringiensis</i> ssp. <i>tenebrionis</i>	Novodor	Květopas jabloňový
<i>Typhlodromus pyri</i>	<i>Typhlodromus pyri</i>	Svilušky, hálčivci, vlnovníkovci
<i>Bacillus subtilis</i>	Ibefungin	Plíseň šedá, ošetření ran dřevin proti houbovým chorobám

3.2.2. Mechanické metody

Mechanické prostředky jsou v zásadě velmi jednoduché činnosti vedoucí ke zničení či oslabení škůdců nebo patogenů a zmenšující jejich populace. Užitečnými prostředky jsou různé bariéry, lapače, leповé desky nebo sítě, instalované k rostlinám. Síť proti hmyzu a ptákům a bariéry (ohrádka proti slimákům, mříž ke kořenům proti hryzcům) naproti tomu znemožňují, aby se škůdce vůbec dostal k rostlině. Pro snižování a sledování populace hmyzu se užívají leповé pásy určité barvy. V každém případě je účinek lapačů obvykle nízký a musí se kombinovat s jinými postupy. [13]

3.2.3. Minerální přípravky a přípravky na bázi sloučenin mědi a síry

Měď, nebo lépe řečeno, na bázi mědi založené postřiky jsou nedílnou součástí vinohradů a sadů po celém světě. Postřiky založené na bázi mědi se používají jako účinný fungicid (ochrana proti houbovým chorobám) a efektivně působí proti plísni révové (*peronospora*) a plísni šedé (*botritida*). Přípravky na bázi síry ničí padlí révové (*oidium*). [11]

3.2.4. Zelené hnojení

Jde o organické hnojení, jehož podstatou je vysévání semen jednotlivých druhů rostlin, nebo jejich směsí, aniž bychom prováděli sklizeň zelené hmoty, ale takto vyprodukovanou biomasu zapravíme do půdy. Hnojení dodává půdě potřebnou organickou hmotu a živiny a chrání dočasně odkrytou půdu před sluncem, erozí a deštěm. Dochází k zlepšení a prokypření struktury půdy, což má pozitivní vliv na mikroorganismy v půdě. Potlačuje také růst nežádoucích plevelů. Určité druhy rostlin mohou půdu vzhledem k látkám v nich obsažených i ozdravovat a působit proti škůdcům či chorobám, všechny podporují tvorbu humusu. Nejčastěji ve vinohradnictví využívanými typy zeleného hnojení je posklizňový, nebo časně jarní výsev. [4,15]

3.2.5. Rostlinné hnojení

Rostlinné výtažky jsou jako hnojivo čistě organické a ekologické. Nezvratnou výhodou přípravků z léčivých rostlin je jejich metodičnost pro ŽP a užitečné živočichy. Podporuje růst, zdraví a odolnost pěstovaných rostlin. Rostliny obsahují kromě vzácného zinku a železa i látky, které podporují růst a příznivě ovlivňují obranyschopnost proti chorobám. Dusík, fosfor, draslík je totiž pro složitý komplex rostlinného těla málo. [9,15]

Výběrem rostlin a jejich extraktem naopak můžeme poskytnout rostlinám více potřebných látek a také ovlivnit složení budoucího hnojiva. Nejvděčnějším základem rostlinného hnojiva je kopřiva. Obsahuje velké množství dusíku vhodný především v období růstu. Zdraví a odolnost rostlin mohou podpořit výluhy z těch samých bylin, které pomáhají i našemu zdraví např. heřmánek, měsíček, máta, žebříček, levandule, šalvěj či meduňka. [15]

4. VÝROBA VÍNA

4.1. Vinná réva – základní surovina pro výrobu vína

4.1.1. Původ a popis

Réva vinná, latinským názvem známá jako *Vitis vinifera* patří mezi čeled' rostlin révovitých „*Vitaceae*“. Je jedinečnou, celosvětově rozšířenou hlavní zahradnickou plodinou. Jde o popínavou, dřevnatou rostlinu, která se pomocí úponků přichytává k oporám a točí se jako liána. Dosahuje výšky 5 metrů. Pěstuje se na kamenitých půdách, kde mají kořeny dostatek kyslíku. Kořeny révy vinné prorůstají půdou a přijímají živiny, které slouží jako výživa, zásobují energií mikroorganismy v půdě, zlepšují půdní strukturu. Listy jsou okrouhlé, laločnaté a zubovité. Listy mohou být zelené až žlutozelené, zbarvení závisí na druhu odrůdy hroznů. Květenstvím révy je lata. Květy jsou žluté až žlutozelené barvy. Plodem jsou kulovité bobule vejčitého tvaru o průměru 1,5 cm. Plody barev jsou různorodé dle odrůdy např. žluté, zelené, tmavofialové. Réva vinná kvete v období červnu a až července a dozrává v období září a října. [7,16]

4.1.2. Složení bobule hroznů

Hrozen se skládá z třapiny a bobulí. Vytrálost a celkový stav jednotlivých částí hroznů má vliv na chemické složení a kvalitu budoucího vína. Složky hroznů jsou zastoupeny v různém množství, které se odvíjí od odrůdy hroznů, stupni zralosti a ekologických podmínek. [17]

4.1.2.1. Třapiny

Třapiny obsahují asi 35 – 90 % vody. Přítomny jsou cukry, kyselina vinná, jablečná, rostlinná barviva a třísloviny. Ze začátku jsou zelené a mají vyšší obsah vody, dozráním hroznů hnědnou a dřevnatí. Nevyzrálé třapiny mají negativní vliv pro vznik budoucího vína, protože způsobují hořkou chuť vína. [17,18]

4.1.2.2. Bobule

Bobule hroznů se skládá ze slupky, semen a dužiny, která je prostoupená žilkami. Slupka obsahuje ochrannou voskovou vrstvu, která chrání bobuli před houbovými chorobami, umožňuje snadnější stékání dešťové vody a zmenšuje odpařování vody. Obsahuje aromatické látky a barviva. U bílých odrůd jde o žlutozelená barviva (flavony a chlorofyl) u modrých odrůd (antokyany). Slupka obsahuje velké množství kvasinek, plísní a bakterií, pomocí nichž se přetváří mošt na víno. Má velký vliv na chuť, barvu a celkový charakter vína. Nejdůležitější součástí je dužnina tvořící 85 – 90 % celkové hmotnosti hroznů. Tvořena je převážně vodou, cukry, organickými kyselinami, minerálními látkami a vitamíny. V buňkách dužiny se nachází šťáva – mošt. Semena jednotlivých odrůd se liší barvou, tvarem a velikostí. Obsahují značné množství tříslovin a hořkých látek. [17,18]

Tabulka č. 3: Chemické složení jednotlivých částí hroznu v % [17]

Složka	Třápina	Slupka	Semena	Dužnina
Voda	35 – 90	53 – 82	30 – 45	55 – 92
Pentosy a Pentosany, Hexosy	1 – 2,8	1 – 1,2	3,9 – 4,5	0,2 – 0,5
	stopy	nepatrně	–	10 – 30
Sacharóza	–	–	–	do 1, 5
Pektiny	0,7	0,9	–	0,1 – 0,3
Kyseliny	0,5 – 1,6	0,1 – 0,7	–	0,1 – 0,8
Třísloviny	1,3 – 3	0,01 – 2	1,8 – 5	stopy
Barviva	–	1,0 – 15, 4	–	stopy
Enzymy	stopy	stopy	stopy	stopy
Vitamíny	stopy	stopy	stopy	stopy
N - látky	0,7 – 2,2	0,8 – 1,9	0,8 – 1,2	1,4 – 2,2
Aromatické látky	–	stopy	stopy	–
Oleje	–	1,5	10 – 20	–
Popeloviny	6 – 10	2 – 3,7	2 – 5	0,1 – 1,1

4.1.3. Růst a zrání hroznů

Fáze růstu hroznu začíná změknutím a oplodněním hroznů. Dochází k intenzivnímu zvětšování hmotnosti a objemu bobulí hroznů. Buňky uvnitř bobule rostou na povrch a vytváří dužninu. Z buněk se na povrchu tvoří slupka. V tomto období růstu je obsah cukrů velmi nízký. Obsah kyselin je naopak velmi vysoký (35 g.l^{-1}), je tvořen kyselinou jablečnou, vinnou, jantarovou, šřavelovou a citrónovou. Bobule hroznů jsou nezralé, tvrdé a zelené. [17]

Fáze zrání hroznů začíná změknutím hroznů, kdy se protopektin mění na pektin a bobule se stávají průsvitnými. Zrání opět závisí na druhu odrůdy (raná, poloraná, pozdní) a také na podmínkách stanoviště (klíma, půda, expozice). Charakteristickým znakem je změna zbarvení bobulí na žlutozelenou nebo červenomodrou barvu dle odrůdy. V období zrání přechází cukr z listů do bobulí, kde se ukládá a částečně spotřebovává dýcháním při zrání hroznů. Na začátku je obsah cukru velmi vysoký, postupným zráním se však množství zmenšuje. Dochází také ke změně obsahu kyselin. Při intenzivním dýchání se při růstu hroznů obsah kyselin zvyšuje, při zrání hroznů se snižuje. Zralost hroznů se posuzuje podle toho, k jakému účelu je chceme použít. Proto rozlišujeme zralost konzumní a technologickou. [17,19]

4.1.3.1. Konzumní zralost

Konzumní zralost je spíše spojována se stolními odrůdami. Vyžadujeme u ní harmonický poměr cukrů a kyselin. Stolní hrozny obvykle nedosahují vysoké cukernatosti a nejsou tedy vhodné ke zpracování na víno [20]

4.1.3.2. Technologická zralost

Pro výrobu révového vína musí být hrozny ve fázi technologické zralosti. Zralost je podmíněna co nejvyšším obsahem cukrů, proto se nechávají hrozny na keřích co nejdéle a vinice se řádně udržuje. [18,20]

4.1.4. Sklizeň hroznů

Doba sběru hroznů se odvíjí od typu odrůdy a stupni zralosti hroznů. Sleduje se také jakostní třída a zdravotní stav. Podle těchto kritérií se určuje způsob zpracování a úpravy moštu před samotným kvašením. Obvykle určujeme dobu sklizně podle fyziologických znaků, vybarvení bobulí a jejich chuti. Avšak nejlépe a přesněji podle obsahu zkvasitelných cukrů a kyselin. Nezralé hrozny mají malý obsah cukrů a vysoký obsah kyselin, také nedostatečně vyvinuté aromatické a chuťové látky. Proto se provádí před sklizní rozbor moštů na obsah těchto složek. Pokud na předběžných zkouškách je zjištěno, že cukernatost je 19 °NM nebo více, zašle se příslušné Státní zemědělské a potravinářské inspekci (SZPI) závazná přihláška k ověření sklizených hroznů k výrobě vína s přívlastkem podle ustanovení § 9, odst. 4, písmene d) zákona č. 321/2004 Sb. Rané odrůdy se začínají sklízet koncem srpna, odrůdy se střední dobou zralosti v druhé polovině září a podzimní odrůdy v říjnu. [17,18]

4.2. Technologické postupy u výroby vína

4.2.1. Drcení a odzrňování

Ihned po sběru hroznů by se měly hrozny zpracovávat, aby se nezapařily, neokysličily a nezoctovatěly. Při odzrňování se hrozny zpracovávají na hroznovou drť. Drcením by se neměly porušit semena a rozmačkat třapiny, z nichž by se do rmutu dostala nežádoucí šťáva obsahující chlorofyl a třísloviny, které by zhoršily kvalitu budoucího vína. Odzrňováním jsou pevné části hroznu tj. třapiny a dřevité části odděleny od bobulí pomocí odzrňovačů a mlýnků různých typů a výkonů. [18,21]

4.2.2. Nakvašení rmutu

Nakvašení rmutu se uplatňuje především u aromatických, muškátových a kořeněných odrůd. Při nakvašení dochází v rozrušených bobulích k intenzivnímu vyluhování aromatických látek a barevných pigmentů, které jsou obsaženy ve slupce, činností kvasných enzymů. Činností kvasinek vzniká v průběhu nakvašení etylalkohol, který podporuje extrakci barevných a buketových látek. Do rmutu se přidává i oxid siřičitý, který zabraňuje oxidaci rmutu a působí jako konzervační prostředek proti škodlivým bakteriím. Nakvašení rmutů s nízkým obsahem kyselin je nežádoucí a způsobuje vznik fádnicích vín. S cílem zvýšit úlisnost, zlepšit filtraci vína, vůni a barvu se aplikují u nakvašení pektolytické enzymy. Délka nakvašení se odvíjí od druhu odrůdy. U bílých aromatických odrůd hroznu jde o dobu 12 – 48 hodin, u modrých odrůd 4 – 14 dní. [17,18,22]

4.2.3. Lisování

Lisování patří mezi důležité operace, které přímo ovlivňují výslednou kvalitu vína. Dochází k oddělení kapalně fáze lisované suroviny od tuhé fáze. U malovinařů se nejčastěji používají lis s dřevěným košem. Ve vinařství se osvědčují horizontální hydraulické lis, které se musí však regulovat nebo pneumatické lis, které jsou modernější a nejšetrnější k hroznům. Stupeň vylisování se odvíjí od konzistence lisovací látky a tlaku. Na kvalitu lisování má vliv odrůda hroznů, stupeň zralosti a zpracování hroznu před samotným lisováním. Při lisování je potřeba dosáhnout maximálního množství vylisovaného moštu, ale zároveň zachovat jeho prvotřídní kvalitu. Čím šetrnější lisování, tím kvalitnější je mošt i víno. Nemělo by dojít k porušení semen, aby se do moštu nedostaly případné hořčiny a trpkost. Při lisování odtéká mošt tzv. samotok, který obsahuje nejvíce cukru a buketních látek. Výsledkem je nejjakostnější a nejjemnější víno. Pevné části po vylisování nazýváme matoliny. [18,22,23]

4.2.4. Úprava révového moštu

Před samotným kvašením se pro úpravu moštu nejčastěji používají procesy odkalování, síření a provzdušnění.

4.2.4.1. Úprava cukernatosti

Za nepříznivých klimatických podmínek tj. nízké teploty, malého množství vodních srážek nedosáhnou hrozny technologické zralosti, jsou dostatečně nevyzrálé a mají nízkou cukernatost. Dobrá kvalita se posuzuje podle poměru cukrů a kyselin. Je možné přidávat sacharosu (řepný cukr), případně zahuštěný mošt, čímž se kvalita vína výrazně zlepší. Ke zvýšení cukernatosti o 1 stupeň NM, musí být přidáno 1,1 kg cukru na 100 litrů moštu. [17]

4.2.4.2. Odkyselování

Úpravu kyselosti podstupují zejména mošty z nedozrálých hroznů, které mají vysoký obsah kyselin a z nich vyrobená vína jsou tvrdá a neharmonicky kyselá. Pro snížení kyselosti dochází k vysrážení kyseliny vinné a k biologickému odbourávání kyseliny jablečné, kdy se obsah může snížit o 2 – 3 g/l. V jiných případech, kdy je obsah kyselin neúměrně vysoký, se přistupuje k chemické aplikaci odkyselení uhličitanem vápenatým. Podle rovnice:



Na snížení obsahu kyselin o 1g/l kyselin v 1 hl moštu je potřeba 67 g uhličitanu vápenatého. [17,18]

4.2.4.3. Síření

Síření se provádí v různých stadiích výroby vína. U zpracování nahnilých a poškozených hroznů se musí sířit již ve stadiu rmutu. Naopak při zpracování zdravých hroznů se síření oddaluje až do první stáčky, kdy víno přestává chránit oxid uhličitý. Ve vinařství je tedy oxid

siřičitý velmi důležitý, protože má redukční, konzervační a antiseptické účinky. Působí zhoubně na bakterie, plísně a aerobní kvasinky obsažené v moštu. Ovlivňuje také jakost a stabilitu vína, působí příznivě na tvorbu chuťových látek a buketu budoucího vína. Mošty se siří spalováním siřných knotů v nádobách, do kterých se plní nebo použitím pyrosiřičitanu draselného, který je výhodnější z hlediska znečištění vína. [17,18]

4.2.4.4. Odkalování

Při drcení, odzrňování a lisování hroznů se do rmutu dostávají nečistoty, obsahující především kvasinkovou a bakteriální mikroflóru, které negativně ovlivňuje budoucí kvalitu vína. Při odkalování dochází k odstranění kalů a mechanických nečistot, s nimiž se strhávají i kontaminující mikroorganismy. Také se zpomaluje kvasný proces a odstraní se část oxidačních enzymů, čímž snížíme stupeň oxidace ve víně. Účinek odkalování zvýšíme např. oxidem siřičitým, ohřevem nebo ochlazením moštu. Využívají se filtry, kalolisy nebo také odstředivky. [17,18]

4.2.4.5. Provdzušnění

Při provdzušnění se obohacuje mošt vzdušným kyslíkem, dochází k oksličování. Oksličováním se podporuje činnost kvasinek a vysrážení bílkovinných látek, pektinů a tříslovin. Provdzušňují se jen zdravé mošty. Mošty z nahnilých hroznů totiž podléhají oxidačním enzymům, které způsobují jejich hnědnutí nebo rozšíření aerobních kvasinek a bakterií, které způsobují octové kvašení. [17]

4.2.5. Kvašení moštu

Kvasný proces neboli fermentace patří k nejdůležitějším technologickým procesům. Při alkoholovém kvašení vzniká alkohol a oxid uhličitý z cukrů (fruktosa a glukosa) obsažených v hroznech za přítomnosti kvasinek. Při kvašení vzniká také velké množství vedlejších produktů ovlivňující aromatické a chuťové látky (estery, aldehydy, kyselina octová, kyselina máselná, mléčná). [18]



Po veškeré přeměně zkvasitelných cukrů na alkohol je fermentace dokončena. Kvasinky zastavují svou činnost dosažením úrovně asi 16 obj. %, kdy tento objem alkoholu je již pro kvasinky toxický. Nejčastěji se užívají pro kvašení vín nádrže z nerezové oceli s regulovatelnou teplotou. Převážná část moštů ze zdravého hroznu kvasí spontánně. Divoké kvasinky jsou do moštu dodány samovolně spolu se zdravými hrozny, na nichž jsou přilnuté. Činnost těchto divokých kvasinek způsobuje zvláštní charakter vína U moštů z poškozených hroznů obsahující nečistoty a nežádoucí MO negativně ovlivňují kvasný proces, proto se do moštu přidávají čisté kultury kvasinek. Ty zajišťují rychlé a hluboké prokvašení a víno se lépe čistí. Na přípravu čistých kultur kvasinek se nejčastěji používají ušlechtilé kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* var. *elipsoideus* a *Saccharomyces oviformis*. Optimální teplota kvašení běžně používaných kvasinek je 15 – 20 °C. Při teplotách vyšších než 35 °C se činnost

kvasinek zpomaluje nebo úplně zastavuje. Proto se doporučuje tzv. řízené kvašení. Čím vyšší teplota, tím více aromatických a buketních látek uniká. Pro správný průběh kvasného procesu se vyžaduje i vhodná koncentrace cukrů. V první fázi kvašení se začínají kvasinky rozmnožovat, především apikulátní kvasinky, které zahajují kvasný proces. Po dosažení 4 až 5 obj. % alkoholu apikulátní kvasinky odumírají a nastává bouřlivé kvašení. V kvašení pokračují vinné kvasinky, které jsou odolné vůči alkoholu a schopné kvasit i při nedostatku kyslíku. [24,25,26]



Obrázek č. 3: Kvašení moštu [36]

4.2.6. Mikrobiologie kvašení

Kvasinky jsou velice důležitou součástí kvasného procesu, při kterém pozitivně přispívají k chuti vína. Individualita a osobnost příchutě vína závisí na druzích a kmenech kvasinek ekologického kvašení a také mnoha faktorech, které tuto ekologii ovlivňují. Pro kvašení se užívají kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces oviformis*, z divokých kvasinek *Kloeckera apiculata*. Divoké kvasinky způsobují spontánní kvašení. Vyšlechtěné čisté kultury kvasinek rodu *Saccharomyces* zajišťují rychlé a hluboké prokvašení moštu. Na vzniku vína se podílí i mléčné bakterie, které dodávají vínu jemnější a plnější chuť a stávají se biologicky stabilnější. Jablečno-mléčné kvašení může být vyvolané stejně jako primární kvašení zavedením kultivované bakterie nebo potlačením pomocí oxidu siřičitého. Výsledná hladina cukrů v alkoholu v konečném produktu vína závisí na obsahu cukrů v hroznech. Bakterie způsobují biologické odbourávání tzv. malolaktické kvašení, kdy vlivem bakterií se přítomná kyselina jablečná ($C_6H_{12}O_6$) rozkládá na jemnější kyselinu mléčnou (CH_3CH_2OH) a oxid uhličitý (CO_2). Snižují dále obsah kyselin, zlepšují mikrobiologickou stabilitu a organoleptické vlastnosti. Avšak MLF někdy selže z důvodu tvrdých podmínek ŽP ve víně pro bakteriální přežití a růst, tj. nízké pH, vysoký obsah alkoholu, SO_2 a nízké teploty. Účinnost bakterií závisí na jejich schopnosti přežít a množit se ve víně. [25,26,27]

4.2.7. Zrání

Po ukončení kvasného procesu se nachází víno ve fázi zrání, kdy se dotváří jeho konečné aroma, chuť a barva. Víno se čistí a oxid uhličitý pomalu vyprchává. Vína dozrávají v dřevěných sudech nebo nerezových tankách (obrázek č. 4), ty mají velký vliv na rychlost a kvalitu zrání. U červených vín je doba zralosti obvykle delší než u vín bílých. Pokud víno dosáhne své sudové zralosti, ukončí tedy oxidační procesy a je stáčeno do lahví. [18]



Obrázek č. 4: Dubové sudy a nerezové tanky [36]

4.2.8. První stáčení vína

Stáčením se odstraňuje usazenina od čistého vína. První stáčení by se mělo provádět, je-li víno dokvašené a má vhodný poměr kyselin vzhledem k ostatním složkám. Po dokvašení, v období listopadu a prosince, se stáčí vína méně alkoholická s menším obsahem kyselin. Vína, u nichž chceme zachovat výrazné odrůdové aroma, stáčíme co nejdříve. V období ledna se stáčí vína, která mají hodně kyselin, dostatek alkoholu a zbytek cukru, který pomalu dokvasí. Vína, která nejsou dostatečně čistá, prokvašená, nejsou náchylná ke hnědnutí, se stáčí s provzdušněním, čímž se urychlí jejich vyzrávání. Vína náchylná na hnědnutí se stáčí bez přístupu vzduchu a zasílí se dávkou pyrosiřičitanu draselného v množství 3 – 4 g/hl. [18,20]

4.2.9. Druhé stáčení vína

Druhé stáčení vína probíhá po době 6 – 10 týdnů od stáčení prvního. Vína se stáčí v určitém stupni vývoje, musí být zdravé, čiré a stabilní. Podruhé se stáčí bez přístupu vzduchu, aby nedocházelo k úbytku aromatických a chuťových látek. Pouze červená vína můžeme trochu provzdušnit, čímž zlepšíme buket i barvu vína. Při druhém stáčení se využívá filtrace přes křemelinu a podle potřeby scelování a čiření vína. [18,21]

4.2.10. Školení vína

Velmi důležitou fází při výrobě vína je jeho školení, obsahující řadu technologických zákroků, které příznivě ovlivňují kvalitu a charakter budoucího vína. [23]

4.2.10.1. Scelování

Scelování vína patří k nejdůležitějším procesům, kdy dochází k vyrovnávání určitých disharmonií ve víně. Zlepšují se chuťové vlastnosti, zvyšuje nebo snižuje se obsah etanolu a kyselin ve víně. Budoucí vína tak získávají stabilní kvalitu a charakter. [17,21]

4.2.10.2. Čiření

Jde o proces, kterým se z vína odstraňují kalící částice a nestabilní látky. Nejčastějším prostředkem pro urychlení vysrážení jsou čířící prostředky. Výběr čířících prostředků závisí na druhu a charakteru vína i na druhu látek, které zákal způsobují. Čiřidla obsahují elektrický náboj a na základě opačného náboje se vážou látky obsažené ve víně. Kladné náboje mají bílkovinná čířidla např. želatina, vaječný bílek, mléko a kasein. Záporný náboj pak agar, bentonit, kyselina křemičitá a kaolin. [18,23,24]

4.2.10.3. Filtrace

Filtrace slouží k odstranění zbytků nečistot ve formě jemných kalů a k zachycení mikroorganismů. Víno se filtruje přes filtrační desky, používá se křemelina, celulózová vlákna a membrány z různých plastových polymerů. Po první filtraci by víno mělo být čiré, poslední filtrace je kladena na mikrobiologickou stabilitu vína. Průběh filtrace ovlivňuje stav vína, filtrační tlak a jakost filtrační hmoty. [19,24]

4.2.10.4. Stabilizace

Stabilizace omezuje biochemické procesy, při nichž dochází k vysrážení látek ve víně v době skladování, lahvování a přepravě. Likvidují se nežádoucí mikroorganismy, které by negativně ovlivnily charakter vína. Stabilita je ovlivňována pomocí chladu a tepla. Používán je i oxid siřičitý, který zabraňuje oxidaci vína a likvidaci buketních látek. Vína stabilizujeme hlavně pro dosažení výroby mladých vín, svěžích a se zbytkem nezrzašeného cukru. [18,20]

4.3. Víno z ekologicky pěstovaných hroznů

Ekologicky vypěstované hrozny pochází z vinic obdělávaných ekologickými metodami, jež jsou na evropské úrovni definovány EU Směrnicemi č. 834/2007 a 889/2008 o ekologické produkci a označování ekologických produktů dle všeobecných směrnic EU pro výrobu vína 479/2008 (annex 4 a 5), které definují sklepní technologie a to při použití ekologicky vyrobených hroznů. [14]

Obecně platí, že pěstování révy v režimu organického vinohradnictví je ve srovnání s integrovanou produkcí podstatně náročnější na úroveň vědomostí a zkušeností. [14]

4.3.1. Ekologické víno

Ekologické víno je vyráběné z hroznů získávaných z vinné révy, která je pěstována podle pravidel EZ. Zpracování hroznů probíhá bez používání šlechtěných kvasinek, enzymů a jiných stabilizačních látek. Výsledkem je ryze přírodní víno bez syntetických reziduí a umělých barviv a aromátů. Chuť je kořenitější a projevuje se tzv. terroir – původní charakter vína, který je dán přírodními podmínkami a místní půdou. Biovína mají vyšší cukernatost, bohatší chuť a vůni a celkově je kvalita vyšší ve srovnání s konvenčními víny. [4]

Šetrnější výroba ekologických vín s sebou nese jednu nemilou vlastnost pro spotřebitele. Je náročnější na skladování, protože víno je stále živé a světlo a teplo může podpořit kvasný proces, musí být tedy skladováno v temnu a při teplotě 10 – 15 °C. [7]

V biovinářství jsou oblíbeny zejména odrůdy přirozeně odolné proti houbovým chorobám, s pevnou slupkou a vysokou cukernatostí hroznů. Často se zde setkáte s řadou původních regionálních odrůd, nebo s vysoce šlechtěnými odrůdami. Biovína od českých certifikovaných vinařů jsou prezentována především odrůdami Pálava, Cabernet Moravia, Malverina, Laurot, Naturvin, André, Ryzlink rýnský, Hibernál a Muškát moravský. [4]

4.3.2. Zpracování ekologicky pěstovaných hroznů

Zpracování ekologicky pěstovaných hroznů by mělo být co nejšetrnější jak k surovině, tak i k ŽP. S tím souvisí i snaha o úsporu energie, matoliny jsou využívány zpět ve vinici jako hnojivo. [7]

K produkci bio moštu se sbírají hrozny obsahující cukernatost 21 °NM. Bobule révy vinné by se měly sklízet zdravé, zralé s vyrovnaným poměrem cukrů a kyselin a neporušené. Hrozny se po odštížení ukládají do nízkých nádob, aby se hrozny nerozmačkaly vlastní vahou, protože vytékající šťáva oxiduje. Po sklizni jsou hrozny rozdrčeny a případně se zbaví třapin. Hroznová drť (rmut) se ihned lisuje, čímž ji nemusíme sít. Při drčení se mikroorganismy důkladně promísí s drtí, která se současně okysličí, čímž se zlepší podmínky kvašení. Potom se přidá bentonit (2 g/l) a želatina (5 g/100 l). Bentonit zvyšuje obsah železa ve víně, nejčastěji se přidává před kvasem, protože to je obsah železa nejvyšší než po kvasu. Před kvasem se musí nechat mošt asi 20 hodin sedimentovat. Poté se mošt zasílí (do 10 mg SO₂/l), čímž se podpoří rozvoj přidávaných komerčních kvasinek. Oxid siřičitý je důležitý pro zachování kvalitativních znaků vína. Váže vedlejší kvasné produkty, chrání víno před oxidací, brzdí rozvoj bakterií. Kvašení probíhá celkem pomalu přibližně 20 dní, čímž se snižuje tvorba acetaldehydu. Výsledným produktem by mělo být suché víno, bez potřeby SO₂ ke stabilizaci. Potom se víno nechá po dobu 4 měsíců na kvasnicích. Nejčastěji se užívají nerezové nádoby, přetlakové tanky s možností regulace teploty. [7]

Jablečno-mléčným kvašením se snižuje obsah kyselin, kdy se kyselina jablečná mění na mléčnou kyselinu za uvolnění oxidu uhličitého. Odbourávání kyselin podporuje teplota

20 – 25 °C, dochází k harmonizaci vína a CO₂ udržuje víno svěží, není tolik potřeba siření. Stabilizace trvá přibližně 5 až 20 dní při teplotě -5 °C. Takto zchlazené víno by se mělo míchat a poté přefiltrovat. Následným krokem je pasterizace, kdy se zvýší stabilita vína. Při dezinfekci lahví preferuje EZ použití páry před oxidem siřičitým. [7]

5. MIKROFLÓRA VÍNA

5.1. Kvasinky a kvasinkové mikroorganismy

5.1.1. Přírodní stanoviště kvasinek

Společenství kvasinek a kvasinkových organismů na přírodních stanovištích tj. hrozny, půda závisí na ekologických podmínkách oblasti vinohradu. Na složení mikroflóry vinice mají vliv agrotechnické a biologické zásahy člověka. Činitelé, které působí na organismy jako podnebí, půda, teplota, vzduch, světlo atd. vytváří spolu se substrátem, na kterém se kvasinky vyskytují charakter jejich stanoviště. [22,28]

Na kvasinkovou populaci moštu a vín působí i vlivy druhotných stanovišť, např. kontaminující mikroflóra zařízení vinařských provozoven, dodržovaná hygiena a sanitace závodu. [29]

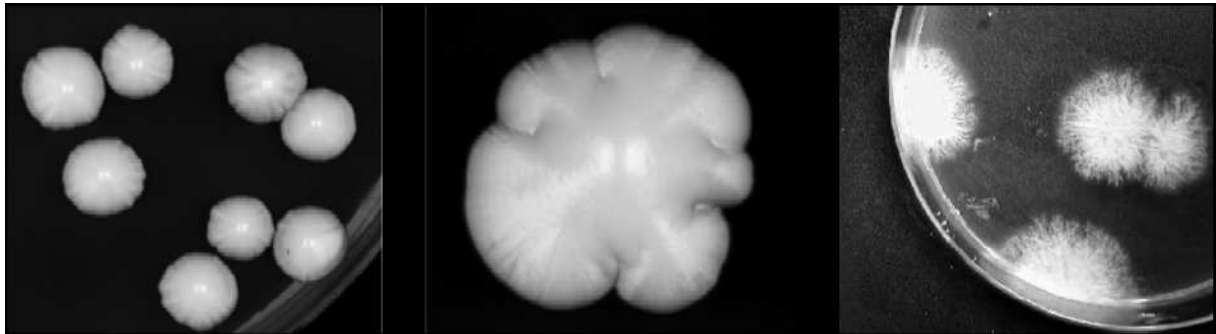
5.1.2. Morfologie kvasinkových buněk

Kvasinky jsou jednobuněčné mikroorganismy (dále MO), které charakterizujeme podle morfologických, fyziologických a biochemických vlastností.[8] Jsou tvarově a velikostí velice rozmanité. Vegetativní buňky mohou být oválné, elipsovité, vejcovité, protáhlé, nepravidelného tvaru apod. Tvar a velikost buňky jsou typické pro jednotlivé druhy kvasinek, i když se velikost může měnit v důsledku ŽP a biochemických procesů v buňce. [17]

Kvasinkové organismy vytváří keříčkovité útvary nebo řetízky protáhlých buněk směřující od kolonií do prostředí, po povrchu a do hloubky, na kterých pučí kvasinkové buňky v přeslenech či chomáčích. Výsledkem je pseudomycelium, útvar podobný hyfám, avšak jde o jednojaderné, jednotlivé buňky, které nejsou spojeny póry. Pseudomycelium se rozrůstá na okraje kolonií a vytváří koříčkový vzhled. Naopak pravé mycelium tvoří jednotliví buňky s jedním jádrem a řetězce buněk nejsou spojeny póry. Pravé mycelium může mít dvoujaderné (dikaryon) nebo vícejaderné (coenocytium) články. Hyfa je rozdělena příhrádkami (septum) s velmi malými póry, aby buněčné struktury nemohly procházet. [28]

Při očkování kvasinek na povrch živného média, zpevněného agarem nebo želatinou se vytváří nátěry nebo kolonie. Kolonie se mohou tvořit z jedné buňky – jednobuněčné kolonie. Při vytvoření kolonie z více buněk a z různých prvků životního cyklu kultury jsou výsledkem obrovské kolonie. Charakteristika obrovských kolonií závisí nejen na chemickém a fyzikálním složení prostředí, ale i na povaze zpevňovacího média (agar, želatina) a podmínkách kultivace (teplota, pH prostředí, relativní vlhkost). Kolonie může být hladká, drsná a slizovitá. Jejich povrch může být kučeravý, lesklý, matný kráterovitý apod. Vlastnosti kolonií jsou ovlivňovány především velikostí a tvarem vegetativních buněk. Kmeny s velkými,

protáhnutými buňkami, typické pro rod *Candida*, *Hansenula*, *Pichia* vytváří drsné, kožovité a rozprostřené kolonie. Hladké a kompaktní kolonie tvoří malé kulaté buňky haploidních populací. Slizovité kolonie tvoří kultury s buňkami opouzdřenými slizem. [28,29]



Obrázek č. 5: Některé typy kolonií u kvasinkových mikroorganismů [28]

5.1.3. Populace kvasinek v moštu

Kvasinkovou mikroflóru hroznu a spontánních kvasících bílých a modrých moštů tvoří pestrá paleta sporogenních a asporogenních kvasinek. [29]

Kvasinková flóra na hroznech a v kvasícím moště, která zodpovídá za spontánní kvašení moštu, se liší v různých oblastech, které se projeví v kvalitativním rozdělení zastoupení dominantních a subdominantních rodů a druhů kvasinek v mikroflóře. [22]

Kvasinkovou flóru zrajícího hroznu tvoří sporogenní druhy rodu *Kloeckera*, *Candida* a kvasinkové *Aureobasidium sp.* Během spontánního kvašení moštu převládá společenstvo *Kl. Apiculata* a *C. pulcherrima*. Ve fázi bouřlivého kvašení a dokvašení *S. cerevisiae* a *S. oviformis*. [22]

Kvasinky a kvasinkové mikroorganismy přírodních stanovišť lze rozdělit podle frekvence na hrozně, v moště a rmutu na 3 základní skupiny. [22]

První skupinou jsou asporogenní druhy *Kl. apiculata* a *C. pulcherrima*, které se nachází v počáteční fázi kvašení moštu. Zodpovídají za začátek spontánního kvašení. Na jejich aktivitu navazují o 2 až 3 dny později kvasinky druhu *S. cerevisiae*, které jsou lépe přizpůsobeny prostředí a odolnější vůči vznikajícímu alkoholu. Potlačují činnost nespportujících druhů a dominují tedy ve fázi bouřlivého kvašení. Ve fázi dokvašení, se uplatňují kvasinky *S. oviformis*, které společně s *S. cerevisiae* zodpovídají za zkvašení posledních zbytků cukrů v moště. V sudových, ale i v láhvích vína vyvolávají druhotné (sekundární) kvašení vín se zbytkem cukru a s tím je i spojen výskyt zákalu vína. [22,29]

Kvasinky druhé skupiny mají druhořadý význam pro technologickou výrobu vína, ale mohou ovlivňovat alkoholové kvašení v některých oblastech. *S.carlsbergensia* v tokajské oblasti nebo *H. anomale* var. *anomale* v okrajových vinohradnických oblastech. [22]

Do třetí skupiny se řadí kvasinky, které v mikroflóře vystupují jen sporadicky a náhodně např. *S. veronae*, *S. italicus*, *S. chevalieri*. [22]

5.1.4. Populace kvasinek ve víně

V mladých vínech převažují především druhy kvasinek, které jsou rezistentní proti alkoholu (*S. cerevisiae*, *S. oviformis*, *S. carlsbergensis*) a druhy s aerobním metabolismem (*C. vini*, *Pichia sp.*, *Hansenula sp.*). [22]

Přítomnost sporogenních druhů kvasinek signalizuje v mladých vínech zvýšenou aktivitu těchto kvasinek, které bývají zpravidla původci biologických zákalů.[3] V lahvích vína odpovídají za tvorbu zákalů (*Torulopsis sp.*, *Rhodotorula sp.*) a osmofilní kvasinky (*S. Bailii* var. *bailii*), které jsou odolné proti konzervačním prostředkům ve vinařství např. oxidu siřičitému, kyselině sorbové. [22]

V dřevěných sudech převládá druh *Saccharomyces*, způsobující u mladých sudových vín druhotné kvašení. [22]

Kožkotvorné druhy rodu *Candida*, *Pichia* a *Hansenula* jsou škodlivé kontaminující kvasinky vinařských provozů tj. druhotných stanovišť. Dostávají se do vína stykem s výrobními zařízeními. [22]

5.2. Bakterie

Jsou jednobuněčné prokaryotické organismy, které jsou součástí mikroflóry hroznu, moštu a vína. Rozdělujeme je na bakterie užitečné, které kvalitu vína zlepšují, protože jejich účinkem probíhá jablečno-mléčné kvašení ve víně. Vlivem škodlivých bakterií vznikají nežádoucí mikrobiologické změny ve víně. [17]

5.2.1. Ekologie mléčných bakterií

Přírodním stanovištěm mléčných bakterií není víno, ani mošt, ale dozrávající bobule hroznů. Z nichž se bakterie dostávají do moštu technologickými postupy výroby vína, pomocí drcení a lisování. [29]

Alespoň část bakteriální mikroflóry se dostává do moštu i z druhotných stanovišť v provozovnách tj. z náradí, sudů, tanků apod. Výskyt mléčných bakterií byl zjištěn i na listech vinice i v půdě. [29]

5.2.2. Systematika bakterií

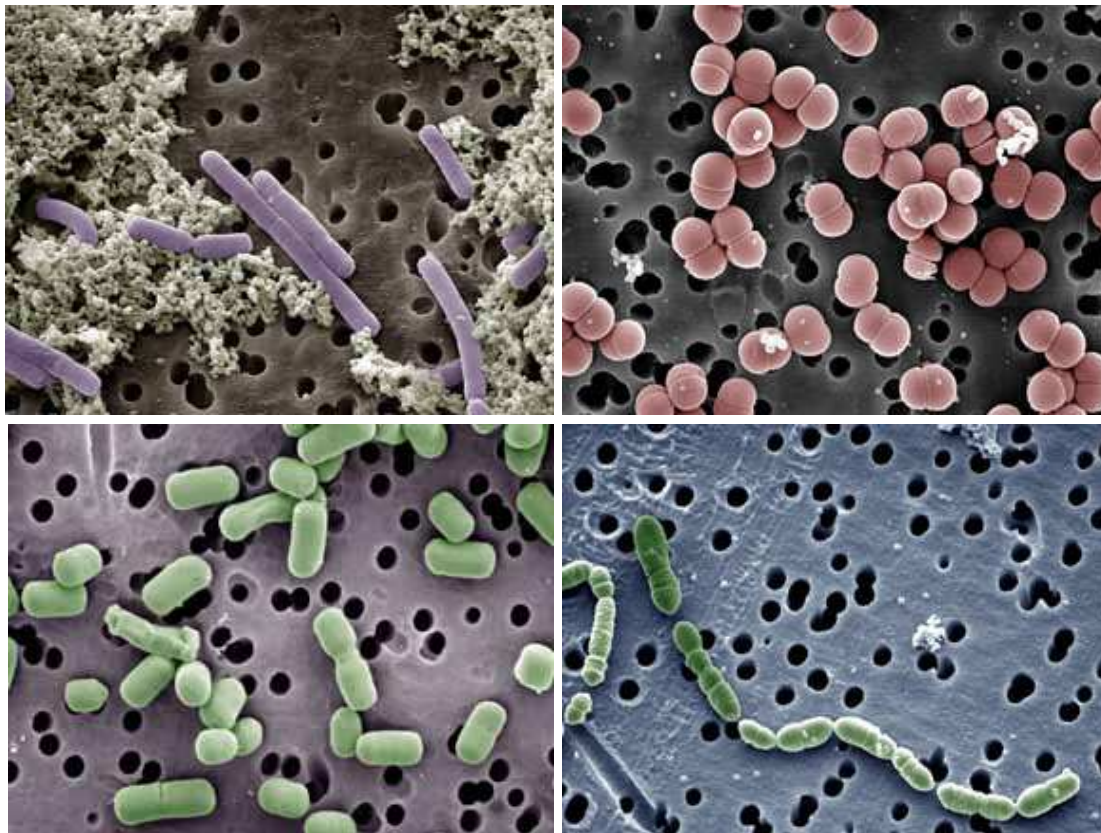
Při výrobě vína se uplatňují bakterie mléčného rodu *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Pediococcus*, pocházející z bobulí hroznů, listů révy vinné a vína. V našich ekologických podmínkách výroby vína se vyskytují homofermentativní a heterofermentativní tyčinky rodu *Lactobacillus* a heterofermentativní koky. [22]

Mléčné bakterie mají schopnost odbourávat malát. Avšak většina kmenů nedokáže degradovat tartarát. [22]

Homofermentativní mléčné bakterie (*Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp.) tvoří z hexóz jen kyselinu mléčnou pomocí dráhy fruktóza-1, 6-difosfát. [22]

Heterofermentativní mléčné bakterie (*Leuconostoc* sp., některé bakterie *Lactobacillus* sp.) z hexóz vytváří kyselinu mléčnou, etanol, popřípadě kyselinu octovou a oxid uhličitý pentózovou dráhou. [22]

Octové bakterie vína patří do rodu *Acetobacter* a *Pseudomonas*. Všechny známé druhy jsou gramnegativní a mají aerobní metabolismus. [29]



Obrázek č. 6: Druhy mléčných bakterií zleva: (*Lactobacillus casei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus brevis*, *Oenococcus oeni*) [32]

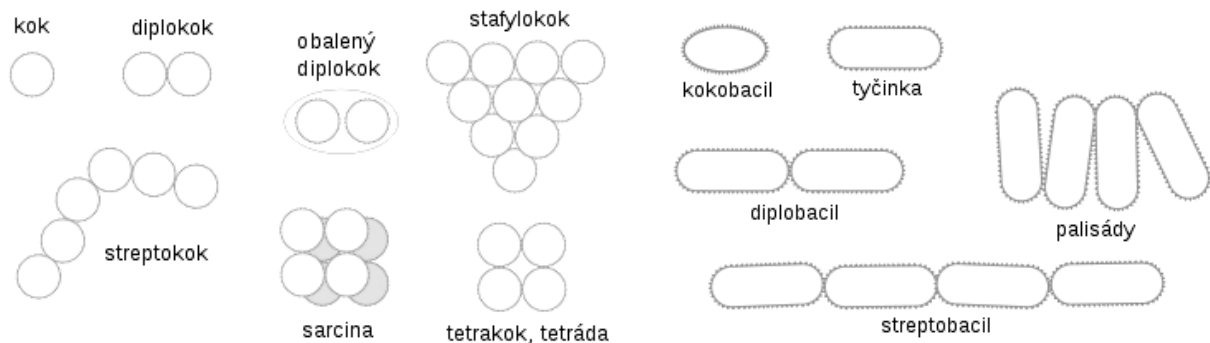
5.2.3. Morfologie buněk bakterií

Bakterie jsou po fyziologické stránce velmi rozmanité, ale po morfologické stránce nejsou mezi rody výrazné rozdíly. Tvar buněk bakterií je nejčastěji tyčinkovitý, méně potom kulovitý. Vlákňitý tvar se vyskytuje u rozsáhle skupiny půdních bakterií řádu *Actinomycetales*. [31]

Kulovité vegetativní buňky tzv. koky se rozmnožují dělením pouze v jedné rovině a tvoří řetězky např. rod *Streptococcus*. Při dělení ve dvou na sebe kolmých rovinách vytváří tetrády

např. rod *Pediococcus*. Při dělení ve třech na sebe kolmých rovinách tvoří tzv. sarciny. Pokud se dělí v různých rovinách, vznikají nepravidelné shluky např. u rodu *Staphylococcus*. [31]

Tyčinkovité buňky mohou být rovné, zakřivené, tvaru pravidelné spirály nebo dlouhé nepravidelné spirály. Vyskytují se druhy tvořící velmi krátké tyčinky, které se podobají především kokům nebo druhy s dlouhými tyčinkami, připomínající krátká vlákna. Délka vláknů je závislá na kultivačních podmínkách např. teplota, obsah alkoholu, acidita apod. [29,31]



Obrázek č. 7: Tvary bakterií [36]

5.2.4. Změny ve víně způsobené činností bakterií

Vliv mléčných bakterií může způsobit ve víně pozitivní nebo nežádoucí změny. Užitečnými změnami jsou ty, při kterých se účinkem mléčných bakterií sníží obsah kyseliny jablečné ve víně a naopak se zvýší obsah kyseliny mléčné. Ostatní složky vína jsou ovlivněny jen v malé míře. Účinkem malolaktického kvašení dochází ke zmírnění kyselosti, čímž víno dostává jemnější a harmonickou chuť. Nežádoucí je jablečno-mléčné kvašení kmeny bakterií, které produkují větší množství prchavých látek. Nežádoucí je také změna obsahu kyseliny vinné a glycerolu, která vzniká v důsledku činnosti mléčných bakterií. Degradace kyseliny vinné mléčnými bakteriemi probíhá intenzivně při vyšších teplotách, pH nebo ve vínech, které mají menší kyselost. [17]

Změny způsobené vlivem octových bakterií jsou ve víně vždy nepříznivé. Mezi inhibitory octových bakterií patří např. vyšší obsah etanolu, 30 – 50 mg/l volného oxidu siřičitého a nízká teplota uskladňování vína, přibližně kolem teploty 12 až 15 °C. [17]

5.3. Plísně

Houby, které tvoří vláknité vegetační útvary nebo plísňové kolonie označujeme jako houby hyfovité neboli plísně. Mezi nejvýznamnější takové houby hroznu a vína patří *Phycomycetes* a *Ascomycetes*. [22]

Z rodu *Phycomycetes* má pro vinařskou výrobu význam čeleď *Mucoraceae*, která patří do řádu *Zygomycetales*. Tyto houby jsou rozšířené v přírodě, žijí saprofyticky na odumřelých částech rostlin a živočichů. Některé druhy mohou být i patogenní. [30]

Mezi plísně *Ascomycetes* patří mnoho mikroskopických hub např. *Aspergillus*, *Penicillium* a *Botrytis cinerea*. [29]

5.4. Interakce mikroorganismů ve víně

Chemické složení vína je určeno mnoha faktory např. druhem odrůdy, geografickými a vinařskými podmínkami pěstování hroznů, mikrobiální ekologií hroznů a fermentačních procesů a vinařskými postupy. MO mají vliv na kvalitu hroznů před sklizní, během kvašení, kdy metabolizují cukr hroznů na etanol, oxid uhličitý a další sekundární vedlejší produkty, které ovlivňují chemické složení vína a společně přispívají k jemnosti a individuálnímu charakteru vína. [27]

Ve složitých mikrobiálních ekosystémech, kde se vyskytují nejrůznější druhy a kmeny MO, je možnost vzájemné interakce mezi jednotlivými MO, která poté určuje výslednou ekologii prostředí. Tyto interakce zahrnují kvasinky – kvasinky, kvasinky – vláknité houby a kvasinky – bakterie. [27]

5.4.1. Interakce mezi kvasinkami a vláknitými houbami

Vláknité houby mají velký vliv na produkci vína, hlavně během pěstování hroznů, kdy způsobují jejich kazivost a také produkují mykotoxiny např. ochratoxin A. Některé druhy vláknitých hub mohou infikovat hrozny před sklizní např. *Botrytis*, *Uncinula*, *Alternaria*, *Plasmopara*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Oidium* a *Cladosporium*. Druhy *Botrytis cinerea*, *Aspergillus spp.* a *Penicillium spp.* produkují metabolity, které narušují ekologii a růst kvasinek během alkoholového kvašení. V této fázi má vzájemné působení kvasinek a vláknitých hub možný vliv na chuť vína. [27]

Plísně, které se tvoří na hroznech, jsou nežádoucí, protože podporují tvorbu octových bakterií. Bakterie produkují kyselinu octovou a další látky, které zpomalují růst kvasinek během fermentace. [27]

Bylo zjištěno [27], že některé druhy kvasinek jako *Metschnikowia pulcherrima*, různé druhy *Candida*, *Pichia*, *Cryptococcus*, a některé druhy *Saccharomyces* a *Zygosaccharomyces* mají silnou fungální aktivitu. Tedy vzájemnou kvasinko – houbovou interakcí dochází k deaktivaci plísňových metabolitů během alkoholového kvašení. Houbová chuť produkovaná na hroznech plísní *Uncinula Necator* se snižuje během alkoholového kvašení. Komponenty buněčné stěny jmenovaných kvasinek, zejména 1, 3 – β glukany, mají schopnost pohlcovat mykotoxiny. Toxiny produkované plísněmi jsou zřejmě adsorbovány povrchem kvasinek a odstraněny při prvním stáčení vína.

5.4.2. Interakce mezi kvasinkami

Kvasinky jsou prominentní organismy při výrobě vína, které určují chuť vína a řadu dalších vlastností vlivem své činnosti. Hlavním druhem při produkci vína je *S. cerevisiae*, avšak ostatní druhy jsou také významné. Interakce různých druhů kvasinek se objevuje během jednotlivých fází výroby. Rozmanitost těchto interakcí dopadá na efektivitu procesů a kvalitu

výrobní. Účinky *S. cerevisiae* ovlivňují příchut' vína (např. změnu produkce glycerolu, kyseliny octové, sirovodíku). [27]

Primárním zdrojem kvasinek jsou hrozny. Obecně platí, že na nezralých bobulích se vyskytuje jen velmi málo kvasinek (10 až 10^3 KTJ / g), ale postupným zráním hroznů před sklizní se populace zvyšuje (10^4 do 10^6 KTJ / g). U nezralých hroznů převládají kvasinkové MO rodu *Rhodotorula*, *Cryptococcus* a *Candida*, spolu s *Aureobasidium pullulans*. Většinu těchto druhů lze izolovat od zralých hroznů, ale v této fázi převládají apikulátní kvasinky, rodu *Hanseniaspora*, (*Kloeckera*) a *Metschnikowia*. Poškození povrchu hroznů zvyšuje dostupnost živin pro růst MO, což podporuje počty populace ($> 10^6$ KTJ / g) a rozmanitost kvasinek. Poškozené hrozny mají zvýšený výskyt rodu *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Candida* a *Metschnikowia*, stejně jako druhy *Saccharomyces* a *Zygosaccharomyces*. Existuje mnoho nezodpovězených otázek, proč určité druhy kvasinek (např. *Hanseniaspora* / *Kloeckera*, *Metschnikowia*) převládají na vinných hroznech a jiné druhy (např. *S. cerevisiae*) chybí. Mezi ovlivňující faktory mikroflóry jsou fyziologické a biochemické kompatibility druhů s povrchem hroznů např. přilnavost k povrchu hroznů, sluneční záření, ozáření, periodické vysychání, tolerance vůči chemickým inhibitorům. Na hroznech se běžně vyskytuje *M. pulcherrima*, která inhibuje řadu jiných kvasinek včetně *S. cerevisiae*. [27]

Alkoholové kvašení je hlavní činnost, při níž kvasinky pozitivně přispívají k chuti vína. Kvašení hroznové šťávy představuje komplexní ekosystém, který zahrnuje interaktivní růst a biochemickou aktivitu směsi různých druhů a kmenů kvasinek. Tyto kvasinky pocházejí z flóry hroznů, z povrchů vinařských zařízení a vinařského prostředí. Rody *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Candida* a *Metschnikowia* pochází z hroznů a zahajují proces kvašení. Některé rody *Pichia*, *Issatchenkia* a *Kluyveromyces* mohou také růst v této fázi. Tyto kvasinky rostou do poloviny fermentace a dosahují koncentrace na cca 10^6 do 10^7 KTJ / ml. Potom začínají klesat a odumírají. V tomto okamžiku převládají kvasinky *S. cerevisiae* až do ukončení kvašení. *S. cerevisiae* je považován za hlavní faktor, který řídí růst a vliv rodu non-*Saccharomyces* během kvašení. Obecně platí, že rody *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* a *Issatchenkia* nalezené v hroznové šťávě, nejsou tolerantní ke koncentraci etanolu vyšší než 5 až 7 %, což vysvětluje jejich pokles a následné úmrtí. Nízké teploty snižují citlivost těchto kvasinek vůči etanolu, a proto u kvašení vín při nízkých teplotách 15 až 20 °C převládají rody *Hanseniaspora* a *Candida*. U takových případů jsou tyto rody rovny převládajícímu druhu *S. cerevisiae* na konci kvašení, tedy budou mít vliv na chuť a vůni vína. K charakteristickým vlastnostem vína přispívá i kmen *Candida stellata* společně s *S. cerevisiae*, které zvyšují obsah glycerolu. [27]

5.4.3. Interakce mezi kvasinkami a bakteriemi

Samotné bakterie mají buď pozitivní nebo negativní vliv na produkci vína. Důležitými bakteriemi významnými pro mikrobiologii vína jsou mléčné a octové bakterie. Některé druhy bakterií vylučují hlavní faktory ve vinném ekosystému, jako pH a etanolovou toleranci. Bakterie mléčného kvašení *Lactobacillus* a *Pediococcus* jsou nejvíce relevantní, společně s *Oenococcus oeni*, který uskutečňuje jablečno-mléčné kvašení. U octových bakterií jsou významné druhy *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* a *Gluconobacter oxydans*. [27]

Hrozny, zejména v případě poškození jsou primárním zdrojem bakterií v prostředí vinařství. Byl nalezen druh *Bacillus thuringiensis*, převažující ve vlně, který je možno využít jako biopesticid při pěstování hroznů. Hroznové šťávy vyrobené ze zdravých a zralých hroznů mají nízkou populaci bakterií ($<10^3$ do 10^4 KTJ / ml). S nástupem alkoholového kvašení kvasinek, bakterie vykazují malý růst a odumírají. Avšak růst kvasinek je opožděn, pokud kyseliny mléčného a octového kvašení rostou, a tím potlačují růst kvasinek a způsobují pomalé kvašení. Stejně výsledky vyplývají i u hroznových šťáv připravených z poškozených bobulí hroznů, kde jsou zvýšené populace mléčných a octových bakterií. Tyto bakterie produkují kyselinu octovou, která se stává inhibitorem růstu *S. cerevisiae* [27]

Bakterie mléčného kvašení, především *O. oeni* je odpovědný za jablečno-mléčné kvašení. Přirozeně se vyskytuje ve vlně nebo je lze naočkovat. Růst *oeni O.* během malolaktického kvašení snižuje kyselost vína přeměnou L – jablečné kyseliny na L – mléčnou kyselinu. Tím se zlepšuje chuť vína a zvyšuje se mikrobiologická stabilita odstraněním zbytkových živin. Růst *oeni O.* ve vlně a jablečno-mléčného kvašení ovlivňuje mnoho faktorů. Především interakce kvasinek a bakterií jsou velmi důležité. Studie ukazují, že kmen kvasinek *S. cerevisiae* odpovídá za alkoholové kvašení a může zabránit růstu *oeni Oenococcus*. i jablečno-mléčnému kvašení. Toto chování souvisí s autolýzou kvasinek po alkoholovém kvašení a uvolňování živin, které jsou příznivé pro růst bakterií. Některé kmeny kvasinek a druhy autolyzují rychleji než ostatní, to může mít vliv na různé reakce bakterií. [27]

Během skladování a lahvování vín rostou ve vínech rody bakterií např. *Bacillus* a *Clostridium*, které způsobují kažení mléčných a octových bakterií. Kdy jejich růst je pravděpodobně podporován živinami, které jsou produkovány během autolýzy kvasinek vína a také *Oenococcus oeni*. [27]

6. CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH MIKROORGANISMŮ

Pro stanovení inhibičních účinků ze šalvěje lékařské byly použity následující kvasinky:

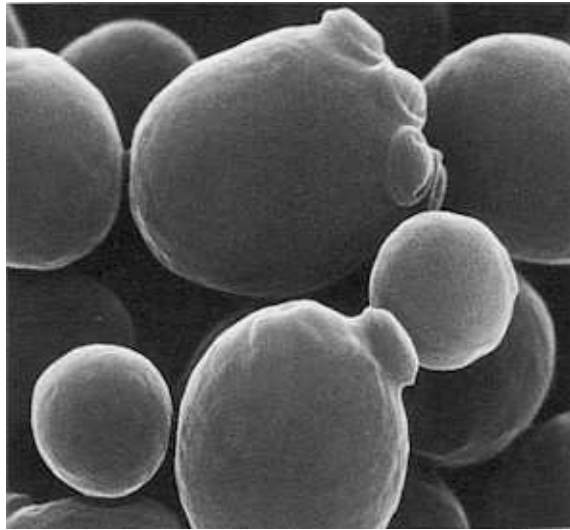
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CCY 21-46-26
<i>Cryptococcus laurentii</i>	CCY 17-3-2
<i>Pichia fermentans</i>	CCY 39-4-2
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	CCY 46-3-15
<i>Rhodotorula glutinis</i>	CCY 20-2-28
<i>Candida stellata</i>	NCA/MY. 01332

6.1. *Saccharomyces cerevisiae*

Spojený rod *S. cerevisiae* se v praxi využívá ve velké míře hlavně v klasickém kvasném průmyslu. [28]

Saccharomyces cerevisiae mají elipsoidní i kulovité buňky. Statické rozpětí délek je 3,7 až 9,7 a šířek 2,6 až 6,4 μm . Některé tvary mohou vytvářet cylindrické až protáhnuté buňky, které mohou být dlouhé až 20 μm . Vytváří stromečkovité bohatě větvené pseudomycelium. Články pseudomycelia mohou přesahovat i 30 μm . V kapalinách tvoří sediment a při okrajích prstence. Nátěr je krémový, světlehnědý, hladký, lesklý, může být i skládaný, kráterovitý, drsný a kadeřavý (např. keříčkové kmeny *Sacch. Cerevisiae*). [28]

Rozmnožují se vegetativně multilaterálním holoblastickým pučením. Nebo pohlavním rozmnožováním, kdy se vegetativní buňky mění přímo na aska, obsahující 1 – 4 kulovité spory s hladkými stěnami. Kmeny jsou homothalické i heterothalické. [28]



Obrázek č. 9: *Saccharomyces cerevisiae*

6.2. *Cryptococcus laurentii*

Kvasinky druhu *Cryptococcus* patří mezi psychrofilní, které mají v oblibě nízké teploty. Rostou v rozmezí teplot -2 až 20°C, optimální teplota jejich růstu je 15°C. *Cryptococcus* je parazitický druh vyskytující se na lidech a zvířatech. Přicházíme s ním do styku s půdou, vodou, prachem. Choroby, které způsobuje, nazýváme kryptokokózy. [28]

Buňky jsou elipsoidní až protáhnuté, v párech, řetízích nebo malých skupinách. Jejich velikost se pohybuje okolo $(2 \text{ až } 5,5) \times (3 \text{ až } 7) \mu\text{m}$, šířka může dosáhnout až 8,5 a délka 13 μm . V kapalném prostředí vytváří slizovitý sediment, prstenec i kožku. Nátěr na tuhých půdách je krémový, zbarvený do žluta nebo oranžova, hladký, prstovitý, neslznatý. V některých kmenech však velmi slizovitý až stékající na dno zkumavky. Sliz je řidší než u *Cr. albidus*. Pseudomycelium ani pravé mycelium nevytváří. Netvoří ani askospory, teliospory ani balistokonidie. Asimiluje inozitol jako zdroj uhlíku pro růst. [28]

Rozmnožují se multilaterálním pučením. [28]

6.3. *Pichia fermentans*

Řadí se mezi *Acomycetes*. Patří do skupiny kožkotvorných kvasinek, které jsou schopné růst na povrchu kapalin vytvářet na nich charakteristické kožky nebo prstence. Jsou to aerobní kvasinky a jejich kvašení je zpravidla slabé. Sporadicky se vyskytuje na přírodních stanovištích, např. na vinicích, ve víně. [28]

Pichia fermentans se uvádí jako *Pichia dombrowskii* Sacchaetti. Patří mezi kmeny s velkými a protáhlými buňkami o rozměrech $(1,9 \text{ až } 6,5) \times (4 \text{ až } 14,5)$. Vytváří často drsné, kožovité, suché a rozprostřené kolonie. Vytváří suchou, šplhavou kožku, stromečkovitě

větvené pseudomycelium, netvoří pravé hýfy. Nátěr je bílý, matný až kadeřavý, na okraji cípovitý. [28]

Vegetativní i pohlavní způsob rozmnožování. Vegetativně se rozmnožuje multilaterálním pučením na zúžené bázi. Pohlavní cestou se asky vytváří bez předcházející konjugace, po izogamii nebo heterogamní konjugaci. Spory jsou kloboukovitého tvaru, po 2 až 4 v asku, z kterého se lehce uvolňují. [28]

6.4. *Candida stellata*

Kmen *Candida* lze charakterizovat velkými, protáhnutými buňkami, které vytváří drsné, kožovité a rozprostřené kolonie. Vyznačují se také slizovitou kolonií. Obrovská kolonie roste rychlostí 4 až 4,5 mm za 100 hodin. Buňky jsou kulovitého a elipsoidního tvaru s rozměry (2 až 5) × (3 až 6) μm. Vyskytují se jednotlivě v párech, ale nejčastěji ve shluku tvořící keříčkovitý tvar, vypadající jako hvězdičky (proto druhový název *stellata*). Nevytváří pseudomycelium. V kapalném prostředí vytváří jen sediment, po delším čase mohou vytvářet tenkou kožku. Nátěr je bílý až světlehnědý, šťavnatý, hladký, skládaný s uceleným okrajem. Někdy vytváří ze sacharidů kyselinu, což se projeví tvorbou jasnou zónou okolo nátěru na křídovém agaru. Touto vlastností se podobají rodu *Brettanomyces*. [28]

Zkvašují sacharózu i rafinózu, což svědčí o produkci β – fruktozidázy. *C. stellata* se velmi často izoluje z květů rostlin, např. z bobulí hroznů ve vinohradech odkud se dostává do moštu. [28]

Rozmnožují se buď vegetativním (pučením) nebo pohlavním způsobem. [28]



Obrázek č. 12: *Candida stellata*

6.5. *Hanseniaspora uvarum*

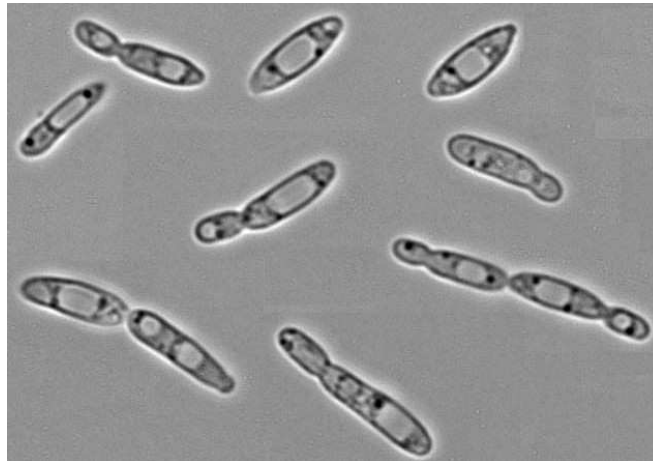
Rod *Hanseniaspora* patří mezi apikulární kvasinky, které se řadí pod čeleď *Saccharomycodaceae*. Často se vyskytují na prvotních stanovištích a uplatňují se při začátku spontánního kvašení. Kvasinky zkvašují sacharidy a snižují redoxní potenciál. Pro svůj růst potřebují inozitol a pantotenát. [28]

Buňky jsou citrónovité, apikulární, oválné až protáhnuté. Vegetativní buňky mají rozměry (1,5 až 5) × (2,5 až 11) μm. V kapalném prostředí kultura vytváří sediment a slabý prstenec.

Nátěr je řídký, sivě bílý a hladký. Může vytvářet rudimentární, stromečkovitě větvené pseudomycelium. [28]

Rozmnožuje se holoblastickým pučením. Vegetativní buňky jsou diploidní. Asky se tvoří v řetzcích, mají 1-2 spory s drsnou stěnou a slabým ekvatoriálním lemem. Spory se tvoří na sladinovém agaru už během kultivace. [28]

Inhibuje růst bakterií např. *Lactobacillus plantarum* a *Bacillus megatherium*. Také produkuje smrtící toxin. [28]



Obrázek č. 11: *Hanseniaspora uvarum*

6.6. *Rhodotorula glutinis*

Patří mezi *Basidiomycetes*. Jde o ubikvitní kvasinky, které jsou rozšířené po celém světě. Je možné je izolovat ze vzduchu, z půdy, sladké i slané vody, z vinařských provozoven, z povrchu rostlin i z různých orgánů živočišného těla. Nejsou náročné na životní podmínky, rozmnožují se často i v půdách bez zdroje dusíku. V přírodě se právě vyskytuje nejčastěji *Rh. glutinis*. Všechny druhy rodu *Rhodotorula* jsou lipidotvorné, hromadí v buňkách tuk, za určitých podmínek až nadměrné množství. S tím souvisí schopnost produkovat lipasy, využívat n-alkany. Rod *Rhodotorula* se vyskytuje na druhotných stanovištích při výrobě vína, jsou trvalou součástí mikroorganismů pivnic, cisteren a jiných pivnicových zařízení. Patří mezi tzv. červené kvasinky, protože obsahují červené karotenoidní barvivo. [28]

Rod *Rhodotorula* se podobá svým tvarem buněk rodu *Saccharomyces*, ale odlišuje se velikostí a vnitřní strukturou buněk. Buňky jsou malé s rozměry $(2,5 \text{ až } 5) \times (6 \text{ až } 13) \mu\text{m}$, někdy mohou být protáhnuté. V kapalném prostředí vytváří sediment a prstenec, zpravidla světlé, krémové až světlerůžové barvy. Nátěr na agaru je korálově-červený, pomerančový, lososový. Zbarvení závisí na složení živné půdy. Je hladký, lesklý, slizovitý, řídký, na povrchu může někdy být i kadeřavý. Okraj kolonie je ucelený, jen zřídka se objeví primitivní pseudomycelium. [28]



Obrázek č. 10: *Rhodotorula glutinis*

7. CHARAKTERISTIKA ŠALVĚJE LÉKAŘSKÉ (*Salvia officinalis*)

7.1. Původ a rozšíření

Šalvěj lékařská je bylina, která pochází z Balkánského poloostrova. Dnes je rozšířena v Evropě, Severní Americe i Africe. Najdeme ji na vápencových svazích, na skalách i pěstovanou na zahrádkách. Daří se jí v teplém, suchém podnebí a ve výživné, propustné nejlépe vápenité půdě. Mnoho druhů má téměř celosvětový areál rozšíření, kdy nejvíce jich nalezneme ve střední a jihozápadní části Asie. Rostliny z rodu *Salvia* se pěstují pouze jako okrasné. [33]

7.2. Botanický popis

Tabulka č. 4: Taxonomické rozdělení [33]

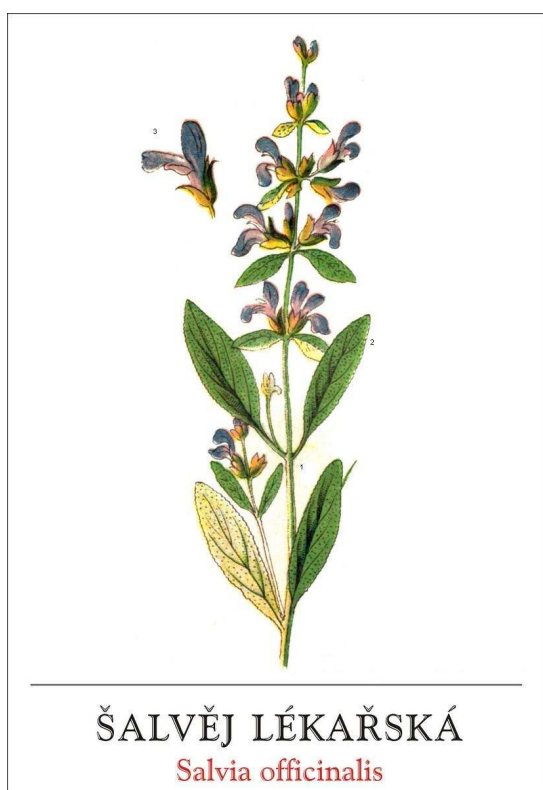
říše	rostliny (<i>Plantae</i>)
podříše	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
oddělení	krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
třída	vyšší dvouděložné rostliny (<i>Rosopsida</i>)
řád	hluchavkotvaré (<i>Lamiales</i>)
čeleď	hluchavkovité (<i>Lamiaceae</i>)
rod	šalvěj (<i>Salvia</i>)
druh	lékařská (<i>Officinalis</i>)

Šalvěj je vytrvalý aromatický polokeř, který dorůstá výšky 30 až 70 cm. Lodyha je přímá, obvykle nevětvená, šedoplstnatá. Listy jsou vstřícné, polodlouhé až eliptické, řapíkaté, vroubkované na okraji s hustou síťovou nervaturou. Květy jsou větší fialového zbarvení, uspořádané do lichopřeslenovitého květenství. Koruna je dvoupyská světle fialové barvy, občas bílá. Kalich je hnědočervený a mírně chlupatý. Plodem je tvrdka. Kvetे obvykle od května do července. Lidovými názvy jsou např. babské ucho, vlčí chvost, babí roucho. [33]

Sběr list (*Folium salviae*): listy se sbírají těsně pře květem v květnu a červnu, kolem poledne za suchého počasí, protože za vlhka listy hnědnou. Suší se rychle a ve stínu v tenkých vrstvách. Při umělém sušení nesmí přesáhnout teplota 35 °C. Usušené listy mají silný kořenitý pach, hořkou chuť a zelené listy. [33]

Sběr nať (*Herba salviae*): sušená nať by měla být nazelenalá až stříbrošedá. Má silný kořenitý pach a kořenitou, hořkou a svíravou chuť. [34]

Obsahové látky: terpenové silice (1,5 – 2,5 %), třísloviny (40 %), flavonoidy, hořčiny, Silice: thujon, salviol a cineol, třísloviny, oxyterpenové kyseliny, estrogenní hormony a amid kyseliny nikotinové.



Obrázek č. 8: šalvěj lékařská (1 – část rostliny, 2 – list, 3 – květ) [34]

7.3. Užití

Šalvěj je velice prospěšná bylina pro lidské zdraví. Blahodárně působí na mozek, čímž zlepšuje myšlení, koncentraci, ostří smysly a paměť. Oživuje krevní oběh a zlepšuje činnost nervové soustavy. Zevně ji lze užívat jako dezinfekci, proti zánětům, poraněním. Má antibakteriální a antiseptické účinky, díky nim se užívá k léčbě gynekologických zánětů, močových cest nebo angíně. Uplatnění najdeme i v kosmetice, kdy odvar ze šalvěje je součástí koupelových pěn, solí a šamponů, které omezují vznik lupů ve vlasech. Používá se při poruchách trávicí soustavy, zánětech sliznice a povzbuzuje vylučování žluči a moče. Výtažky ze šalvěje se přidávají do ústních vod a past na zuby, podporují léčbu zánětů v ústní dutině a zároveň potlačují nepříjemný zápach z úst. Šalvěj je výbornou léčivou bylinkou, ale nesmí se užívat příliš dlouhodobě, protože v silici je obsažen thujon, který je toxický. [33,34]

8. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

8.1. Použité přístroje

Autokláv PS 50V (BMT, Vaposperi)
Biologický termostat (IP 100-U)
Automatická pipeta 10-100 μ l (BIOHIT Proline)
Automatická pipeta 100-1000 μ l (HTL, Labmate)
Vodní lázeň
Laboratorní váhy SPO 61 (SCALTEC, max – 2100 g, d = 0,1g)
Laboratorní třepačka
Mixér
Digitální fotoaparát

8.2. Použité chemikálie

Destilovaná voda
Sladina (STAROBRNO, Brno)
Šalvěj lékařská

8.3. Kultivační média a jejich příprava

8.3.1. Médium pro kultivaci a uchování kvasinek

M-5: Sladinový agar:

Složení a příprava:

pivovarská sladina ředěná na 7 ° dle Ballinga.....	1000 ml
agar	20,0 g

Po krátkém rozvaření agaru se sterilizuje autoklávováním při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Hodnota pH připravovaného média má být $4,0 \pm 0,2$.

M-21: Sladinové médium:

Sladina získaná z pivovaru obsahuje asi 16 % hmot. extraktu. Zředí se na 7 až 8 % hmot. extraktu vodou. Obsah extraktu se měří sacharometrem.

8.4. Postup stanovení

8.4.1. Použité metody a postupy práce

K testování vybraných mikroorganismů byl připraven extrakt ze šalvěje lékařské. Na daných MO byl testován inhibiční účinek daných extraktů ze šalvěje lékařské.

Extrakty byly připraveny:

- z listů sušené šalvěje lékařské (pěstovaná v ČR)
- ze stonků sušené šalvěje lékařské (pěstovaná v ČR)

8.4.2. Příprava extraktů

8.4.2.1. Příprava vodného extraktu ze sušené šalvěje lékařské

2 g, 6 g, 10 g rozemleté rostliny bylo zalito 100 ml sterilní vody (25 °C) a extrahováno 24 hodin na laboratorní třepačce při laboratorní teplotě 25 °C. Rostlinné extrakty byly zfiltrvány a filtráty byly odpařeny na vodní lázni s nastavenou teplotou 70 °C. Odparky byly rozpuštěny v 10 ml sterilní vody. Takto připravené extrakty byly uchovávány při teplotě 4 °C.

8.4.2.2. Postup stanovení inhibičního účinku – diskový test

Kultury byly oživeny ze zásobních kultur na šikmém sladínovém agaru. Byla vytvořena suspenze rozpuštěním kultury v 10 ml sterilní vody. Suspenze byla nepipetována do Petriho misek v objemu 1 ml a byla přelita vysterilizovaným a ochlazeným sladínovým agarem. Na naočkovaný agar byly vloženy vysterilizované papírové disky, na které byly aplikovány připravené koncentráty extraktů z listů a stonků šalvěje lékařské v objemu 10 µl. Poté byly kultivovány v termostatu při teplotě 26 °C po dobu 3 dnů následně vizuálně posouzeny.

9. VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem práce bylo odzkoušet vliv extraktů z listů a stonků šalvěje lékařské na růst a rozmnožování vybraných kvasinek a kvasinkových mikroorganismů, které byly izolovány z vinné révy.

9.1. Inhibiční účinky vodného extraktu ze šalvěje lékařské

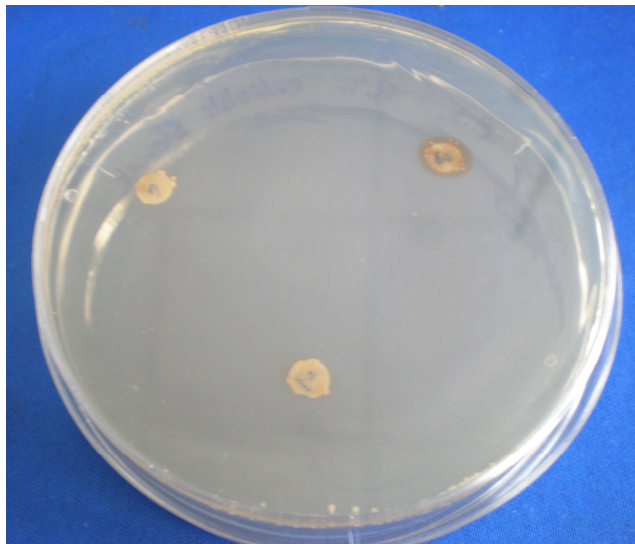
U zvolených extraktů byl sledován inhibiční účinek v závislosti na navážce extrahovaného rostlinného materiálu. V *tabulce č. 4* je uveden přehled inhibice růstu vybraných mikroorganismů po aplikaci extraktu. Z výsledků vyplývá, že růst *Hanseniaspora uvarum* a *Candida stellata* byl inhibován vodným extraktem ze stonků u všech zvolených koncentrací. Vodné extrakty z listů neprokázaly inhibici růstu u žádného vybraného mikroorganismu.

Tabulka č. 4: Přehled indikátorových kvasinek v rámci jednotlivých extraktů

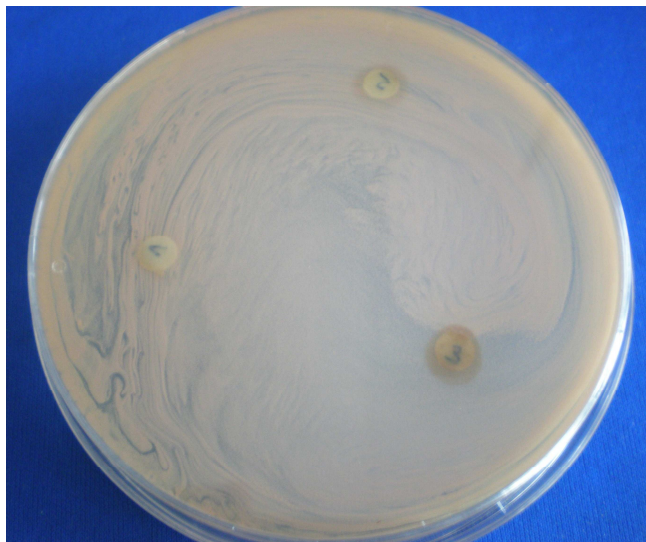
	Extrakt listy			Extrakt stonků		
	2 g	6 g	10 g	2 g	6 g	10 g
Mikroorganismus	24 hod			24 hod		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Cryptococcus laurentii</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Pichia fermentans</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	–	–	–	+	+	+
<i>Rhodotorula glutinis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Candida stellata</i>	–	–	–	+	+	+

+...pozitivní inhibiční účinek, –...negativní inhibiční účinek, 2, 6, 10 g...hmotnost rostliny,

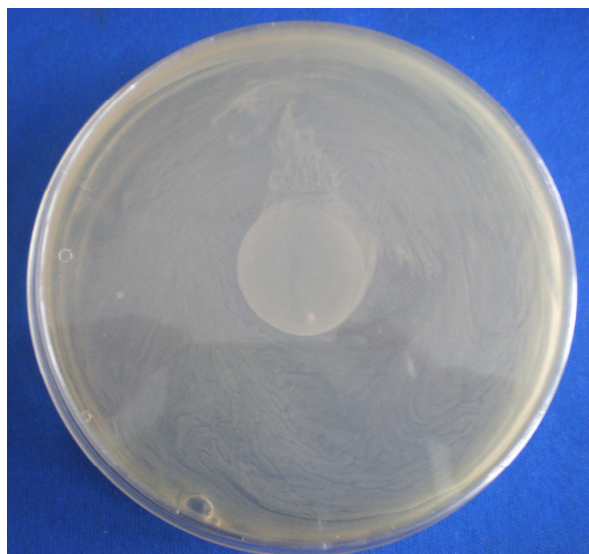
Vyhodnocení inhibičního účinku bylo provedeno na základě vizuálního posouzení diskového testu (*obr. 13 a 14*) a kontrolního stanovení (*obr. 15*). V případě *Candida stellata* *obr. 13* je vidět zřetelné potlačení růstu po aplikaci vodného extraktu ze stonků šalvěje lékařské v porovnání s kontrolním stanovením *obr. č. 15*. Na rozdíl od *obrázku č. 14* kde po aplikaci extraktů nebyl pozorován žádný inhibiční účinek na růst *Rhodotorula glutinis*.



Obrázek č. 13: *Candida stellata*



Obrázek č. 14: *Rhodotorula glutinis*



Obrázek č. 15: kontrolní stanovení *Candida stellata*

10. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši na téma ekologická produkce vín a otestovat inhibiční účinky jednotlivých připravených extraktů ze šalvěje lékařské na vybrané mikroorganismy. Bylo otestováno celkem 6 mikroorganismů (*Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus laurentii*, *Pichia fermentans*, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula glutinis* a *Candida stellata*).

V literární části bakalářské práce jsou popsány jednotlivé postupy při výrobě vín konvenční cestou a vína z ekologicky pěstovaných hroznů. Důležitou součástí produkce je mikroflóra vína, která ovlivňuje budoucí kvalitu a charakter vína. Dále jsou zde zmíněny moderní ekologické prostředky na ochranu rostlin před houbovými chorobami, které jsou povoleny v ekologickém zemědělství. Jedinou cizorodou látkou povolenou v ekologickém vinařství je stále oxid siřičitý, který má redukční, konzervační a antiseptické účinky.

Biovína jsou zcela přírodního původu, neobsahují žádná chemická rezidua. Chuť je bohatší, kořenitější a cukernatost je vyšší než u konvenčních vín. Celkově lze říci, že suroviny vyráběné podle způsobu ekologického zemědělství mají lepší prostředí pro svůj růst a tím i lepší kvalitu.

V experimentální části je popsána příprava vodných extraktů ze sušených listů a stonků šalvěje lékařské. Celkem bylo připraveno tedy 6 extraktů o třech různých koncentracích. Na základě získaných výsledků bylo zjištěno, že vodný extrakt z listů šalvěje lékařské neprokázal inhibici u žádného vybraného mikroorganismu. Avšak u vodného extraktu ze stonků šalvěje lékařské byla prokázána inhibice růstu druhů *Candida stellata* a *Hanseniaspora uvarum*.

Candida stellata a *Hanseniaspora uvarum* patří mezi kvasinky, které zkvašují sacharidy. Nachází se na prvotních stanovištích vinohradu, jsou součástí mikroflóry hroznů. *Hanseniaspora uvarum* se uplatňuje při začátku spontánního kvašení. [28]

11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. *90 argumentů pro ekologické zemědělství*. Olomouc: Bioinstitut, 2007. 16 s. ISBN 978-80-87080-08-5. Dostupné z WWW: <www.Bioinstitut.cz/publikace.cz>.
2. *Biospotřebitel* [online]. 27. 9. 2010 [cit. 2011-03-19]. Dostupné z WWW: <www.biospotřebitel.cz>.
3. CHUDÍČEK, Tomáš. [online]. [cit. 2011-03-19]. *Bio-produkty*. Dostupné z WWW: <www.chudicek.cz>.
4. *Nazeleno* [online]. 3. 2. 2009 [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.nazeleno.cz/bio/biopotraviny-1/biovino-neobvykla-a-jedinecna-chut-zadne-chemikalie.aspx>>.
5. *Porta solis* [online]. 2000 [cit. 2011-03-19]. Dostupné z WWW: <<http://www.portasolis.cz>>.
6. *Bioinstitut* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.bioinstitut.cz>>.
7. SEDLO J., *Ekologické vinohradnictví*, vyd. Ministerstvo zemědělství ČR, 1994. 184 s. ISBN 80-7084 117-6.
8. *Zahrada web* [online]. 21. 7. 2009 [cit. 2011-03-21]. Biopesticidy. Dostupné z WWW: <http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/evropska-unie/Biopesticidy-%E2%80%93-nadejne-zpusoby-ochrany-rostlin__s519x45053.html>.
9. *BIOCONT laboratory* [online]. 2008 [cit. 2011-19-03]. Dostupné z WWW: <<http://www.biocont.cz/profi-vinohrady.html#Obaleci>>.
10. *Trh vín* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <http://www.trhvín.cz/uploaded/article_attachments/0000/0068/Pripravky-2010-CZ.pdf>.
11. *Agrokorm* [online]. [cit. 2011-19-03]. Dostupné z WWW: <http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/Radce_hospodare/radce_ochrana_proti_chorobam_a_skudcum.pdf>.
12. BAGAR, M., *Spolek poradců v ekologickém zemědělství v ČR* [online]. [cit. 2011-19-03]. Biologická ochrana rostlin. Dostupné z WWW: <<http://www.eposcr.eu/?o=3&p=7>>
13. *ECO-FARM* [online]. [cit. 2011-19-03]. Dostupné z WWW: <http://projects.czu.cz/EF/prednasky_2.html>.
14. *Ekovín* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.ekovin.cz/sekce-ekologicke-produkce>>.
15. *ireceptář.cz* [online]. 26. 5. 2010 [cit. 2011-19-03]. I. Dostupné z WWW: <<http://www.ireceptar.cz/zahrada/uzitkova-zahrada/roslinne-vyluhy-a-jichy-skvele-hnojivo-z-plevele/>>.

16. PAVLOUŠEK P., *Encyklopedie révy vinné*, vyd. Computer press, 2008. 316 s. ISBN 978-80-251-2263-1.
17. FARKAŠ, J.: *Biotechnológia vína*. Bratislava: Alfa, 1983. s. 978.
18. HUBÁČEK, V., *Výroba révového vína*. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1926. 40 s. ISBN 80-7105-140-3.
19. *Trh vín* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.trhvín.cz/pruvodce-vinem/>>.
20. KRAUS V., HUBÁČEK V., ACKERMANN P., *Rukověť vinaře*, vyd. Praha: Květ a Brázda, 2000. 262 s. ISBN 80-85362-34-1, ISBN 80-209-0286-4.
21. *Informace o víně* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.mvz.cz/zajimavosti/vyroba-vina.htm>>.
22. MALÍK, F., MINÁRIK, E.: *Liehovárnictvo, Droždiarstvo, Vinárstvo, Část: Vinárstvo*. Ediční stredisko SVŠT Bratislava, 1983, s. 129.
23. *Global wines* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.global-wines.cz/vyroba-vina>>.
24. KUTTELVAŠER Z., *Abeceda vína*, 2. vyd. Praha: Radix, 2003. 280 s. ISBN 80-86031-43-8.
25. FARKAŠ, J.: *Technológia a biochémia vína*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1972. s. 220-290.
26. *Virtulawine* [online]. [cit. 2011-19-03]. Dostupné z WWW: <<http://www.virtulawine.com/au/winemaking/fermentation.asp>>.
27. Fleet, G. H.: Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 86, s. 11 – 22
28. KOCKOVÁ–KRATOCHVÍLOVÁ, A.: *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. s. 704.
29. MINÁRIK, E., NAVARA, A.: *Chémia a mikrobiológia vína*. 1. vyd. Bratislava, 1986. s. 547.
30. MINÁRIK, E., ŠVEJCAR, V.: *Vinařství: Mikrobiologie hroznů a vína*. 2. vyd. Brno: Ediční středisko VŠZ, 1981. s. 99.
31. ŠILHÁNKOVÁ, L.: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Akademie věd České republiky, 2002. s. 83-115.
32. *Bioweb* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://bioweb.usu.edu/emlab/current%20news.html>>.

33. *www.salvej.com* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.salvej.com/>>.
34. *Český institut* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://zdravi.ao-institut.cz/Zdravi/Byliny/07-Salvej-lekarska-Salvia-officinalis.html>>.
35. SWIACKÁ, E.; HORKÁ, S.: Víno z ekologicky vypěstovaných hroznů. *Ekologické listy* [online]. 8. 1. 2011 [cit. 2011-04-9]. Dostupný z WWW: <http://www.ekologickelisty.cz/index.php?option=com_content&task=view&id=918&Itemid=43>.
36. *Projekty SIPVZ* [online]. [cit. 2011-04-09]. Dostupné z WWW: <<http://projektysipvz.gytool.cz/ProjektySIPVZ/Default.aspx?uid=597>>.
37. *Inomed* [online]. [cit. 2011-04-09]. Dostupné z WWW: <<http://inomed.cz/kategorie/medicina/parazit/klasifikace/bakterie.htm>>

12. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

<i>°NM</i>	stupně normovaného moštoměru
<i>EZ</i>	ekologické zemědělství
<i>ČR</i>	Česká republika
<i>EU</i>	Evropská unie
<i>ŽP</i>	životní prostředí
<i>MO</i>	mikroorganismus
<i>SZPI</i>	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
<i>SRS</i>	Státní rostlinolékařská správa