

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



**Agronomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



Mikrobiologie vína

Bakalářská práce

Vedoucí práce:

Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.

Vypracoval:

Jakub Sojka

Brno 2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci Mikrobiologie vína vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

Poděkování

Tímto bych chtěl srdečně a velmi rád poděkovat panu Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph.D. za odborné vedení a usměrnění této práce. Dále bych mu chtěl poděkovat za jeho pozitivní přístup, za zapůjčení tematické literatury a za čas, který se mnou strávil při konzultacích a v laboratořích.

Název: Mikrobiologie vína

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se prvotně zabývá monitoringem určitých skupin mikroorganismů ve vínech a jejich působením na kvalitu vín.

Teoretická část se snaží těžit z poznatků novodobé literatury, úvod je věnován složení bobulí a jeho změnám během vegetace. Po získání suroviny nastává její zpracování a přetváření až do finálního produktu. Podstatná část je věnována fermentaci, kvasinkovým mikroorganismům, technologicky důležitým bakteriím a plísním. Dalším cílem práce bylo shromáždit informace o vadách vín a o prevenci a boji proti kontaminujícím mikroorganismům.

Praktická část je tvořena mikrobiologickým rozbořem vzorků vín. Ve vínech byly stanovovány bakterie mléčného kvašení, kvasinky a celkový počet mikroorganismů. K rozborům byly vybrány čtyři druhy vína, dvě bílá a dvě červená. Každé víno bylo zastoupeno vzorkem od malovinaře a vzorkem z většího vinařství. Zastoupení mikroorganismů je porovnáváno vzhledem k velikosti vinařů.

KLÍČOVÁ SLOVA: výroba vína, fermentace, mikroorganismy, choroby vín

Title: Microbiology of wine

ABSTRACT

The aim of this thesis is to track the specific groups of microorganism in wines, that affect a quality of wines.

The theoretical part includes information about a composition of grapes and about a ripening grapes. After the harvest, the grapes are destemmed, crushed and pressed. Juice from the grapes is fermented by yeasts to wine. The main thesis of the theoretical part is about fermentation, yeasts and other microorganisms important in winemaking. This part also describes wine defects, that are caused by undesirable microorganisms and also describes how to avoid wine defects.

The goal of practical part was making analysis of microorganisms in wines. In wines were determined lactic acid bacteria, yeasts and total number of microorganisms. Analysis was making in white wines and red wines. Results from microbiologic analysis compare a samples from small winemakers with a samples from wine companies.

KEY WORDS: winemaking, fermentation, microorganisms, wine defects

Obsah

1 Úvod.....	7
2 Cíl práce.....	9
3 Literární přehled	10
3.1 Vinohradnictví v České republice.....	10
3.2 Réva vinná	11
3.2.1 Odrůdy révy vinné	11
3.3 Hrozen, surovina pro výrobu vína	13
3.4 Složení bobulí a jeho změny během vegetace	15
3.5 Mikroflóra na vinici	19
3.6 Zpracování hroznů	20
3.7 Oxid siřičitý v enologii	22
3.8 Úprava moštu	23
3.9 Kvasný proces.....	25
3.9.1 Kvasinková mikroflóra moštu	26
3.9.2 Zakvášení moštu	26
3.9.3 Alkoholová fermentace.....	28
3.9.4 Faktory ovlivňující kvasný proces	29
3.10 Kvasinky	30
3.10.1 Přehled nejvýznamnějších rodů kvasinek.....	30
3.11 Malolaktická fermentace.....	33
3.12 Ošetření a stabilizace vína	35
3.13 Zatříd'ování a kontrola vína orgánem SZPI	38
3.14 Technologicky významné plísňe a bakterie.....	40
3.14.1 Plísňe.....	40
3.14.2 Bakterie	42
3.15 Choroby vín	46

3.15.1	Sirka	46
3.15.2	Octovatění – těkavá kyselina	47
3.15.3	Křisovatění.....	48
3.15.4	Vláčkovatění	49
3.15.5	Myšina	50
3.15.6	Zvrhnutí vína.....	50
3.15.7	<i>Brettanomyces</i> – tón po koňském potu	51
3.15.8	Pachut' po plísni	52
4	Materiál a metodika	53
4.1	Použité vzorky	53
4.1.1	Charakteristika jednotlivých vzorků	54
4.2	Metodika	56
5	Výsledky a diskuze	60
6	Závěr	66
7	Seznam použité literatury	69
8	Seznam obrázků	74

1 ÚVOD

Víno je přírodní produkt, který je výsledkem mnoha biochemických reakcí. Výroba vína začíná již zráním hroznů na vinici, pokračuje sklizní, zpracováním hroznů, alkoholovou fermentací, školením a lahvováním (FLEET, QUEROL, 2006).

Plodem révy vinné jsou bobule, které s ostatními částmi tvoří hrozen. Cílem každého pěstitele révy a výrobce vína je získat co nejvyšší a hlavně zdravou surovinu. Ne vždy to však klimatické podmínky daného roku dovolí. Výroba vína začíná již řezem vinice a pokračuje celoroční péčí o hrozny. Hrozny musí být během vegetace chráněny především před parazitickými houbami, ale i ostatními škůdci. Kvalita hroznů během vegetace je nejvíce ovlivněna klimatickými podmínkami daného ročníku. Ročník 2014 je toho důkazem, kdy v srpnu a v září napadlo takové množství srážek, že se hrozny nedaly uchránit před napadením zhoubnou formou plísně šedé. Tím došlo ke snížení kvality hroznů, ale také ke snížení průměrného výnosu a celkově tak došlo k velkým ekonomickým ztrátám. Kvalita hroznů je dána především obsahem cukrů, obsahem kyselin, zdravotním stavem, obsahem dusíkatých a aromatických látek. Během zrání hroznů dochází ke změnám těchto látek. Každý pěstitel a výrobce musí těmito látkovými změnami porozumět, aby mohl stanovit optimální dobu sklizně, která se odvíjí především od obsahu cukrů, obsahu a poměru jednotlivých kyselin a zdravotního stavu hroznů.

Vyzrálé a zdravé hrozny jsou sesbírány z vinice a dopraveny do podniku ke zpracování. Zpracování hroznů zahrnuje několik kroků, které se v jednotlivých podnicích liší, dle požadovaného typu budoucího vína. Po zpracování hroznů nastává fermentace moštu. Kvasinky během fermentace přetváří mošt na víno a vytváří řadu produktů ovlivňujících aroma vína. Po skončení fermentace je víno školené až do lahvování. Každý výrobce vína se podepíše pod jeho osobitost vlastním přístupem a zvolenou technologií výroby.

Důležitým krokem během výroby je dodržování hygieny. Je nutné udržovat všechny prostory, pomůcky, zařízení a nádoby, které přijdou do kontaktu s vínem v absolutní čistotě, aby nedošlo k výskytu a pomnožení nežádoucích mikroorganismů. Víno je tekutina, která má své vlastní ochranné faktory (přítomnost kyselin, alkoholu), které působí vůči mikroorganismům. I tak je nutné kvalitu vína chránit, k tomu se používá různých prostředků a pomocných přípravků. Nejvíce používanou chemickou substancí ve vinař-

ství je oxid siřičitý, který má antioxidační a antimikrobiální vlastnosti. I přes tato preventivní opatření, však může dojít k napadení vín mikroorganismy, které způsobují choroby vína a snižují tak jeho celkovou kvalitu. Za vážnost chorob odpovídají příslušné mikroorganismy, které se ve většině případů dají z vína odstranit. Některé choroby však ani po odstranění mikroorganismů nejde napravit, a proto je kladen velký důraz na sanitaci zařízení a hygienu okolního prostředí, aby vznik chorob nebyl umožněn.

Cílem každého vinaře je vyrobit zdravé a kvalitní víno, ke kterému si najde cestu řada konzumentů. Konzumace vína je v poslední době ve velké oblibě a stává se jakýmsi módním trendem naší společnosti.

Motto: Víno je výrobek se snobskou pověstí, francouzským názvem a zbytečnými údaji, ale snadno se zapomíná na to, že u jeho zrodu stojí člověk v zablácených gumácích.

Phoebe Damrosch

2 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části bylo shrnout poznatky o výrobě vína a o technologicky důležitých mikroorganismech. Práce je prvotně zaměřena na mikroorganismy, které jsou využívány během výroby vína a na mikroorganismy, které mohou kontaminovat víno. Důsledkem kontaminace nežádoucími mikroorganismy je vznik chorob. Jednotlivé choroby jsou v této práci detailně popsány, jsou zde uvedeny informace o prevenci vzniku chorob a informace o jejich odstranění.

Cílem praktické části bylo provést mikrobiologický rozbor vzorků vín, na jehož základě pak byly porovnány vína vyrobené malovinaři s víny z větších vinařství.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Vinohradnictví v České republice

Česká republika se s celkovou plochou osázených vinic o rozloze kolem 17 358 ha řadí mezi malé vinařské země. Většinu osázených ploch zabírají vinice pro výrobu bílých vín. V poslední době obliba vína stoupá, což je dobrým předpokladem pro rozvoj našeho vinohradnictví. ČR patří z hlediska pěstování vína mezi severně položené oblasti v Evropě. Řadí se mezi země s tzv. „vinohradnictvím chladného podnebí“, což je vyjádřeno nižšími průměrnými teplotami za vegetační období a častějším výskytem mrazových teplot. Tato severní poloha i přesto zajišťuje příznivé podmínky pro zrání hroznů, kdy v období dozrávání dochází ke střídání vyšších denních teplot s nízkými nočními, to příznivě ovlivňuje vývoj aromatických látek (PAVLOUŠEK, 2011).

Vinice České republiky jsou rozprostřeny ve dvou vinařských oblastech, tj. v Čechách a na Moravě. Ve vinařské oblasti Čechy se nacházejí dvě podoblasti: Mělnická a Litoměřická. V těchto podoblastech se nachází pouze malý podíl plochy vinic, většina plochy spadá do oblasti Morava. Tato oblast se dělí na podoblast Znojemskou, Velkopavlovickou, Slováckou a Mikulovskou. V oblasti Morava se nejvíce vinic nachází v jižní části. Každá vinice se vyskytuje v dané viniční trati, která náleží určité vinařské obci (PAVLOUŠEK, 2011).

Tabulka 1: Plocha vinic v meziročních datech (ÚKZÚZ, 2014).

Vin. oblast/podoblast	Plocha vinic (ha)		přírůstek/úbytek (%)
	2013	2014	
Čechy	644,1334	652,433	1,29
Čechy-ostatní	10,2273	10,3034	0,74
Litoměřická	285,865	301,1582	5,35
Mělnická	348,0411	340,9714	-2,03
Morava	16912,825	17015,929	0,61
Mikulovská	4611,1138	4689,0481	1,69
Morava-ostatní	9,4143	9,5605	1,55
Slovácká	4312,9902	4354,2333	0,96
Velkopavlovická	4823,6726	4836,8679	0,27
Znojemská	3155,6341	3126,2192	-0,93
Celkem	17556,9584	17668,362	0,63

3.2 Réva vinná

Vztah révy a lidského žití je spjat již od nejstarších dob, kdy se réva vyskytovala poblíž lidských obydlí, kde byly splněny alespoň základní podmínky pro její růst. Postupem času ji lidé rozmnožovali a zakládali tak nové vinice, z nichž získávali víno a hrozny (KRAUS, KRAUS ml., 2003).

Z botanického hlediska réva vinná (*Vitis vinifera* L.) patří do podrodu *Euvitis*, do skupiny euroasijské. Podrod *Euvitis* náleží do rodu *Vitis*, který spadá do čeledi *Vitaceae* L. *Vitis vinifera* se dělí na dva poddruhy, které se od sebe liší morfologickými znaky. Prvním poddruhem je ušlechtilá réva vinná (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera*), označovaná též jako „evropská réva vinná“. Druhým poddruhem je divoká forma, tzv. lesní réva – *Vitis vinifera* subsp. *silvestris* (PAVLOUŠEK, 2011).

Révový keř je tvořen zdřevnatěnou a nezdřevnatěnou částí. Zdřevnatěná část je rozdělena na podzemní orgány (kořeny) a nadzemní orgány (staré dřevo a dvouleté dřevo). Do nezdřevnatěných částí patří výhonky, úponky, semena, bobule, listy a květenství (PAVLOUŠEK, 1999).

Réva vinná je po dobu své existence ohrožována houbovými chorobami, zejména plísní révovou *Plasmopara viticola* [(Berk. & M. A. Curtis) Berl. & De Toni], padlím révy (*Erysiphe necator* Schwein.) a škůdci – mšičkou révokazem (*Dactulosphaira vitifoliae* Fitch.). Z tohoto důvodu jsou použity rezistentní znaky amerických a asijských druhů s kombinací genů kvality vína evropské révy vinné k tvorbě odrůd, které jsou k daným patogenům geneticky odolné (PAVLOUŠEK, 2011).

3.2.1 Odrůdy révy vinné

Odrůdy pěstované na území ČR podléhají registraci do Státní odrůdové knihy. V České republice se pěstují jednak odrůdy světového sortimentu, ale i nově vyšlechtěné odrůdy, ve Státní odrůdové knize najdeme také odrůdy stolní. V poslední době se zvyšuje zájem o tzv. PIWI odrůdy, tedy rezistenty vůči houbovým chorobám. Podle využití se dělí odrůdy révy na moštové, podnožové, stolní a pro výrobu hrozin (PAVLOUŠEK, 2011).

Podnožové odrůdy

V roce 1890 se na Moravě objevil živočišný škůdce révokaz a s ním i houbové choroby, došlo tak k výraznému poklesu plochy vinic (KRAUS, KRAUS ml., 2003).

Domovinou mšičky révokazu je Severní Amerika, z výzkumů zde prováděných, se ukázalo, že mnoho druhů z rodu *Vitis*, rostoucích v Severní Americe, vykazují určitý stupeň rezistence vůči révokazu. Této vlastnosti se začalo využívat pro šlechtění rezistentních podnoží, na které se réva štěpovala (PAVLOUŠEK, 1999).

Podnože se nevyužívají pro produkci hroznů, ale tvoří kořenový systém révy. Pěstují se v podnožových vinicích, kde základním úkolem je výtěžnost kvalitního dřeva (PAVLOUŠEK, 2011).

Moštové odrůdy

Moštové odrůdy révy vinné, ze kterých je dovoleno vyrábět jakostní vína, jsou zapísány ve Státní odrůdové knize nebo v Odrůdových knihách ostatních zemí Evropského společenství. Tyto odrůdy slouží hlavně pro výrobu vína, ale i jiných alkoholických i nealkoholických nápojů (PAVLOUŠEK, 2011).

Typickými a nejpěstovanější bílými moštovými odrůdami u nás jsou: Veltlínské zelené, Ryzlink vlašský, Ryzlink rýnský, Pálava, Müller-Thurgau, Muškát moravský, Sauvignon, Tramín červený a Rulandské šedé (PAVLOUŠEK, 2007).

Mezi modré moštové odrůdy, pěstované na našem území, patří: Cabernet Moravia, Frankovka, Modrý Portugal, Rulandské modré, Svatovavřínecké a Zweigeltrebe (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

Stolní odrůdy

Stolní odrůdy se pěstují pro přímý konzum hroznů. Jejich společným znakem jsou velké bobule s pevnou dužninou. Tyto odrůdy podléhají registraci do Státní odrůdové knihy, tím splňují podmínky pro velkovýrobní pěstování. Mezi typické stolní odrůdy patří Chrupka bílá a Chrupka červená (PAVLOUŠEK, 2011).

Odrůdy pro produkci hrozinek

K produkci hrozinek se využívají zejména bezsemenné odrůdy, jejichž bobule jsou vhodné k sušení. Mezi nejznámější odrůdy patří Sultanina a Black Corinth (PAVLOUŠEK, 2011).

PIWI odrůdy

Interspecifické odrůdy vznikly mezidruhovým křížením, byly vyšlechtěny s cílem pěstovat révu bez ochrany proti padlí révy, plísni révové, plísni šedé a někdy i s cílem získání odolnosti proti zimním mrazům. V ČR se v současnosti pěstují na 1,5 % plochy vinic (SEDLO, 2014).

Pěstování PIWI odrůd umožňuje minimalizovat používání pesticidů. Jsou vhodné pro pěstování v podmínkách biologického vinohradnictví (PAVLOUŠEK, 2011).

V České republice je z domácího šlechtění registrováno 10 PIWI odrůd, např.: Malverina, Laurot, Cerason, Savilon a další (PAVLOUŠEK, 2014).

3.3 Hrozen, surovina pro výrobu vína

Hrozen je základní surovinou pro výrobu vína. Je tvořen bobulemi, třápinou a stopkami. Plodem révy vinné jsou bobule. Stav bobulí a jejich zralost je výsledkem mnoha složitých fyziologických a biochemických jevů, jež ovlivňují budoucí kvalitu vína (MICHLOVSKÝ, 2014).

Bobule

Bobule je souhrnem pletiv oplodí (perikarp) obklopujících semena. Oplodí se dělí na slupku (exokarp), dužninu (mezokarp) a pletivo ohraničující semena – endokarp (PAVLOUŠEK, 2011).

Bobule je vyživována pomocí vodivých prvků třápiny, které vedou přes stopečku až do dužniny (MICHLOVSKÝ, 2014).

Dužnina

Dužnina je nejdůležitější část bobule. Z celkového zastoupení bobule tvoří dužnina největší podíl. Vlastnosti a chemické složení dužniny se u jednotlivých odrůd významně liší. Hlavní složkou dužniny jsou sacharidy – glukóza a fruktóza, další důležitý podíl tvoří organické kyseliny, nejvíce zastoupené jsou kyselina vinná a kyselina jablečná. Dále dužnina obsahuje také dusíkaté látky, minerální látky, aromatické látky, enzymy, vitamíny a stopové množství barviv a tříslovin (FARKAŠ, 1983).

Slupka

V závislosti na odrůdě tvoří slupka 8 až 20 % hmotnosti bobule. Obsahuje důležité sekundární produkty pro víno, tj. fenolové a aromatické látky, které se extrahují při vinifikaci do moštu (MICHLOVSKÝ, 2014).

Látky obsažené ve slupce se velkou mírou podílí na chuti, vůni a celkovém charakteru budoucího vína. Hlavní složku slupky tvoří voda, nejcennějšími složkami jsou aromatické látky a barviva. Bílé odrůdy obsahují ve slupce žlutozelená barviva, flavony a chlorofyl. Ve slupce modrých odrůd se nachází červená barviva, antokyany. Barva červených vín je závislá na množství barviva ve slupce, které se mění v závislosti na odrůdě, ale také závisí na způsobu zpracování hroznů. Existují také modré odrůdy, které obsahují barviva uvnitř dužniny, tzv. barvířky. Ve slupce je i řada dalších látek, jako jsou: sacharidy, kyseliny, dusíkaté sloučeniny, minerální látky a vosky. Voskovité látky vytvářejí povlak na povrchu slupky, který chrání bobule před působením mikroorganismů (FARKAŠ, 1983).

Semena

Semena se nachází uvnitř bobulí, jejich původní zbarvení se mění během dozrávání ze zelené barvy až do hnědé. Hlavní složkou semen jsou třísloviny, jejich obsah v semenech je 3 až 6 %. Při zpracování hroznů dochází k jejich vyluhování do moštu. Modré odrůdy jsou zpracovávány takovým způsobem, aby se podpořilo vyluhování tříslovin do moštu, naopak u bílých odrůd je obsah tříslovin nežádoucí (FARKAŠ, 1983).

Mezi další sloučeniny obsažené v semenech patří dusíkaté substance, minerální látky a glycidy. V poslední době se využívají semena k získání oleje, který je tvořen převážně kyselinou olejovou a kyselinou linolovou (MICHLOVSKÝ, 2014).

Stopka

Funkcí stopky je připevnění hroznu k letorostu. Sahá od letorostu až po první větvevní třapiny. S postupující vegetační dobou dochází k jejímu hnědnutí a dřevnatění (DOHNAL a kol., 1975).

Třapina

Třapina představuje kolem 3 až 7 % hmotnosti hroznu, je značně rozvětvená. Kratší osy třapiny, které upevňují bobule ke třapině, se nazývají stopečky (PAVLOUŠEK, 2011).

Chemické složení třapiny je podobné jako složení listů révy. Obsahuje malý podíl cukrů a průměrné množství kyselin ve formě solí. Značný je podíl fenolových sloučenin a vody (MICHLOVSKÝ, 2014).

Třísloviny a ostatní fenolové látky se při mletí hroznů louhují do moštu. Třísloviny v třapinách jsou senzoričky drsnější než v bobulích, a proto je jejich obsah v moštech nežádoucí (HRONSKÝ, 2006).

3.4 Složení bobulí a jeho změny během vegetace

Sacharidy

Sacharidy jsou tvořeny z oxidu uhličitého a vody za přítomnosti sluneční energie v procesu zvaném fotosyntéza (FARKAŠ, 1983).

Nejvýznamnějšími cukry v bobulích révy vinné jsou glukóza a fruktóza. Obsah cukrů je velmi důležitý, představuje totiž potenciální obsah alkoholu v budoucím víně (PAVLOUŠEK, 2010).

Během fotosyntézy dochází k hromadění sacharózy (neredukující sacharid) v listech. Odtud je transportována do bobulí, během transportu za působení enzymů, dochází k její hydrolýze na glukózu a fruktózu, tyto redukující sacharidy se poté hromadí v bobulích. Sacharóza se tedy v bobulích nachází jen ve stopovém množství (MICHLOVSKÝ, 2014).

Cukry se nachází převážně ve vakuolách buněk dužniny, malé množství se nachází i v buňkách slupky (PAVLOUŠEK, 2011).

Největší hromadění glukózy a fruktózy nastává po zaměkání bobulí. S postupným zráním hroznů se příliv cukrů do bobulí snižuje. Další zvyšování cukernatosti umožňují změny spojené s odpařováním vody, nebo změny způsobené napadením ušlechtilou plísní šedou (FARKAŠ, 1983).

V bobulích a mošttech vždy převažuje fruktóza. Obsah redukujících cukrů ve zralých hroznech se pohybuje v rozmezí 150 až 240 g/l. Mezi další cukry identifikované v hroznech patří: arabinóza, xylóza, maltóza, rafinóza a další (MICHLOVSKÝ, 2014).

Kyseliny

Obsah jednotlivých kyselin v hroznech je ovlivněn především klimatickými podmínkami a odrůdovou příslušností. Množství a složení kyselin v bobulích je důležitým faktorem pro stanovení optimálního data sklizně a odvíjí se od něj i postup výroby vína a organoleptické vlastnosti vzniklého vína (PAVLOUŠEK, 2011).

Pro bobule odrůd druhu *Vitis vinifera* je charakteristická akumulace dvou kyselin, vinné a jablečné, jejichž množství se během zrání hroznů snižuje. V hroznech se vyskytují i další kyseliny, které přecházejí do moštu: kyselina citronová, kyselina askorbová, kyselina pyrohroznová a další. Hrozny napadené hnilobami obsahují zvýšené množství kyseliny octové a kyseliny glukonové (MICHLOVSKÝ, 2014).

Kyselina vinná je hlavní kyselinou v hroznech, je zodpovědná za kyselou chuť v bobulích a vínech. Kyselina jablečná dává hroznům a vínům ostrou chuť s hrubými a nezralými tóny. Hraje důležitou roli ve výrobě červených vín, kde slouží jako substrát pro bakterie uskutečňující jablečno-mléčné kvašení. Množství kyselin v hroznech ovlivňuje hodnotu pH, která náleží k základním parametrům kvality hroznů a vína. Hodnota pH se během zrání hroznů pohybuje v rozmezí 2,8 až 3,8. Mošty s vysokou hodnotou pH mají sklon k oxidaci a nejsou mikrobiálně stabilní, může v nich dojít k rozvoji divokých bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Pediococcus*), kvasinek rodu *Brettanomyces* a octových bakterií. Naopak nízké hodnoty pH působí inhibičně na bakterie mléčného kvašení a není tak možné aktivovat jablečno-mléčnou fermentaci, která je nezbytná pro výrobu kvalitních červených vín (PAVLOUŠEK, 2011).

Voda

Nejvíce zastoupenou složkou v bobulích je voda, její množství se pohybuje v rozmezí 70 až 80 %. Většinu vody přijímá réva svým kořenovým systémem. V důsledku hromadění vody v bobulích dochází k jejich zvětšování. Při přezrávání hroznů může obsah vody klesat, to je způsobeno odparem, nebo napadením šedou hnilobou *Botrytis cinerea* (PAVLOUŠEK, 2011).

Minerální a fenolické látky

Množství minerálních látek v bobulích ovlivňuje kvalitu moštů a budoucích vín, je zodpovědné za tzv. extrakt vína, který rozhoduje o chuťové plnosti. Minerální látky do jisté míry ovlivňují i organoleptické vlastnosti vín a jejich koloidní stabilitu. Draslík, sodík, hořčík a vápník mají význam v buněčném metabolismu a jsou potřebné pro úspěšné kvašení moštů. Fosfor má důležitou roli v počáteční fázi fermentace, kdy je využíván kvasinkami k jejich růstu. Nízký podíl fosforu omezuje kvašení moštů (PAVLOUŠEK, 2011).

Fenolické sloučeniny ovlivňují především vzhled, chuť, vůni a plnost vín. Mají baktericidní a antioxidační účinky, příznivě působí i na zdraví konzumenta. Do moštu se dostávají extrakcí během vinifikace hroznů a vyluhováním z dřevěných sudů (MICHLOVSKÝ, 2014).

Antokyanová barviva jsou obsažena především v hroznech modrých odrůd a zodpovídají za barvu červených vín. Trísloviny (taniny) způsobují hořký, vysušený a drsný chuťový vjem v ústech. Mohou pocházet z hroznů (semena, slupky), ze dřeva sudů nebo se mohou dodávat ve formě enologických preparátů (PAVLOUŠEK, 2011).

Stilbeny mají antimikrobiální vlastnosti, podílí se na rezistenci hroznů vůči atakům plísní. Do této skupiny patří sloučenina resveratrol, která má ochranné vlastnosti vůči kardiovaskulárním onemocněním (MICHLOVSKÝ, 2014).

Aromatické látky

Vzájemnou interakcí aromatických látek je vytvářen aromatický profil hroznů a vín. V hroznech tyto látky vytváří tzv. primární aroma, které se meziodrůdově liší. Aromatické sloučeniny mohou být ve volné, nebo vázané formě (PAVLOUŠEK, 2010).

Chemické substance, podílející se na aroma, jsou tvořeny převážně uhlovodíky, alkoholy, estery a aldehydy (MICHLOVSKÝ, 2014).

Monoterpeny tvoří základní skupinu aromatických látek, nacházejících se zejména u bílých odrůd. Přispívají k typickému odrůdovému aroma muškátových odrůd. Methoxy-pyraziny se vyskytují především u sauvignonových odrůd a jsou původci travnatých tónů (PAVLOUŠEK, 2011).

Během kvasného procesu mohou vzniknout nové aromatické látky, které odpovídají za tzv. sekundární aroma. Kvasinky jsou schopny pomocí β -glukosidázy odštěpit

aromatické látky, které jsou vázány na cukry, tím se stanou senzoricky vnímatelné. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* vytváří z monoterpenových látek citronelol a linalool, ty se podílejí na vůni mladých vín. Kvasinky rodu *Brettanomyces* sp. produkují aromatické látky, které vyvolávají nepříjemný pach potu a kožešiny, toto aroma se objevuje u červených vín (MICHLOVSKÝ, 2014).

Dusíkaté látky, důležitý zdroj pro výživu kvasinek

Dusíkaté látky v hroznech jsou z převážné části tvořeny bílkovinami, polypeptidy, aminokyselinami a amonnými ionty. Množství a složení dusíkatých látek má vliv na kvalitu fermentace a kvalitu vzniklého vína, ovlivňuje činnost kvasinek a tvorbu aromatických látek. Množství dusíkatých látek v moštu se pohybuje v rozmezí 100 až 1200 mg/l. Pro dobrý průběh fermentace a pro kvalitu budoucího vína je nutná znalost hodnoty asimilovatelného dusíku (YAN). YAN představuje dusík využitelný kvasinkami (yeast assimilable nitrogen). Asimilovatelný dusík je tvořen volnými aminokyselinami a amonnými ionty, jeho minimální hodnota v moštu pro průběh fermentace činí 150 mg/l (PAVLOUŠEK, 2011).

Kvasinky potřebují přijímat z moštu dusík pro jejich růst. Aminokyseliny a amonné ionty vyžadují aktivní transport do těl kvasinek. Kvasinky k tomu využívají specifické přenašeče – permeázy (BAROŇ, 2013).

Nedostatek asimilovatelného dusíku v moštu vyvolává stresové prostředí pro kvasinky, způsobuje tak pomalou a neúplnou fermentaci, spojenou s tvorbou sirnatých sloučenin (choroba sirka). Amonné ionty jsou nejsnadněji využitelným zdrojem dusíku pro kvasinky, ke konci alkoholové fermentace je tato forma dusíku spotřebována. Kvasinky nevyužívají všechny aminokyseliny ve stejném množství. Nejvíce je preferován glutamin a asparagin. Naopak prolin představuje špatný zdroj dusíku, je kvasinkami nevyužitý a zůstává v moštu. K důležitým růstovým faktorům patří i vitaminy (biotin, thiamin), zejména biotin, který si kvasinky nedovedou syntetizovat (BAROŇ, 2013).

Na konci fermentace a během zrání vína na kalech může dojít k uvolňování aminokyselin, to je způsobeno autolýzou mrtvých buněk kvasinek. Zrání vín na kalech se využívá při jablečno-mléčné fermentaci, kdy uvolněné aminokyseliny slouží jako výživa pro bakterie mléčného kvašení (BAROŇ, 2013).

Pokud mošt obsahuje málo asimilovatelného dusíku je potřeba kvasinkám dodat výživu. K tomu se využívají preparáty ve formě amonných solí (fosforečnan amonný, síran amonný) nebo kombinované preparáty aminokyselin, amonných solí a vitaminů (DOHNAL, KRAUS, 1972).

S postupující fermentací dochází k zvyšování obsahu alkoholu. Zvýšený obsah alkoholu znemožňuje kvasinkám příjem aminokyselin. Z toho důvodu je potřeba stimulovat kvasinky k tomu, aby aminokyseliny využívaly na začátku fermentace. Aminokyseliny je proto nutné dodávat na začátku kvašení, naopak amonné ionty se přidávají během fermentace (PAVLOUŠEK, 2010).

3.5 Mikroflóra na vinici

Mikrobiální společenství vinice zahrnuje především kvasinky, bakterie mléčného kvašení, bakterie octového kvašení a houby. Mezi zdroje živin patří látky z povrchu slupky a látky dužniny, které vytékají na povrch při porušení bobule. Některé mikroorganismy jsou schopny pronikat přes mikrotrhliny ve slupce a využívat tak živiny přímo z dužniny. Na porušených bobulích je počet mikroorganismů větší (MICHLOVSKÝ, 2014).

Dle FARKAŠE (1983) jsou voda, vítr a hmyz nejvýznamnějšími přenašeči mikroorganismů.

Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* se na zdravých bobulích vyskytují pouze v malém množství. Vyskytují se i na květech révy a v půdě. Půdu můžeme označit za primární zdroj kvasinek, za působení větru a deště se z ní kvasinky přenášejí na celý révový keř. Největší výskyt kvasinek je v době zrání hroznů a během sklizně (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

S mechanickým porušením bobulí vzrůstá i populace kvasinek. Na poškozených bobulích dominují *Kloeckera* sp., *Metschnikowia* sp. a *Candida* sp. (FLEET, QUEROL, 2006).

V místě napojení stopečky na bobuli se soustřeďují kolonie určitých rodů kvasinek, jsou to především rody *Candida*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, které se vyskytují v období zaměkání hroznů do jejich sklizně. Tyto rody převažují i v začátcích spontánní fermentace (MICHLOVSKÝ, 2014).

Výskyt bakterií převažuje nad výskytem kvasinek. V době sklizně je na jedné bobuli v průměru asi 10 tisíc buněk kvasinek a asi 21 tisíc buněk bakterií. Počet a různorodost mikroorganismů v době sklizně se výrazně liší v jednotlivých ročnících. Bakterie mléčného kvašení jsou reprezentovány především rodem *Lactobacillus* a *Oenococcus*. Z octových bakterií převládají *Gluconobacter oxydans* a *Acetobacter aceti* (MICHLOVSKÝ, 2014).

Parazitické houby mají schopnost pronikat přes slupku bobule a způsobují tak značné ekonomické ztráty ve vinicích. Mezi hlavní druhy patří *Erysiphe necator*, způsobující padlí révy a *Plasmopara viticola* – plíseň révová (MICHLOVSKÝ, 2014).

3.6 Zpracování hroznů

Zpracování hroznů je souhrn technologických operací, jehož cílem je získat co nejvyšší kvalitu moštu. Než dojde ke zpracování hroznů, je důležité stanovit správný termín sklizně, poté nastává sběr a přeprava hroznů. Hrozny projdou několika po sobě jdoucími etapami (odstopkování, drcení, mletí atd.), jejichž výsledkem je získání moštu (HRONSKÝ, 2006).

Sklizeň

Kvalita vzniká ve vinici, sklizené hrozny musejí být prosté hnilob a reziduí přípravků. Pro stanovení správné doby sklizně je důležitá vyzrálost hroznů, která je dána obsahem cukrů, kyselin, barviv, tříslovin, dusíkatých látek apod. Dále se termín sklizně odvíjí od odrůdy, zdravotního stavu hroznů a požadovaného typu vína (STEIDL, 2002).

Obsah cukru a množství kyselin jsou dva nejdůležitější parametry ovlivňující termín sklizně. Dle našeho zákona je cukernatost nejdůležitějším parametrem pro klasifikaci vín, představuje také potenciální obsah alkoholu ve víně. Zjišťování cukernatosti bobulí se provádí přímo na vinici pomocí refraktometru (PAVLOUŠEK, 2010).

Množství kyselin stanovíme titrací moštu roztokem hydroxidu draselného, je udáváno v g/l (BALÍK, 2006).

Sklizeň hroznů je prováděna ručně do plastových bedýnek, nebo mechanizovaně za pomoci sklízecích strojů. V obou případech by hrozny měly být co nejšetrněji a nejrychleji dopraveny do zpracovatelského podniku (STEIDL, 2002).

Odstopkování a drcení hroznů

Před lisováním je nutné hrozny zbavit třapin a mírně narušit bobule pro snadnější uvolňování šťávy při lisování. Tento proces probíhá na mlýnkoodzrňovači, ziskem je rmut (HUBÁČEK, KRAUS, 1982).

Rmut je drť bobulí v moštu, který se z nich uvolnil. Při výrobě červených vín dochází k nakvašování rmutu a vyluhování barviv a tříslovin. Rmut získaný z modrých odrůd, v němž proběhla fermentace, se poté lisuje. Naopak bílá vína se vyrábějí lisováním rmutu a následným kvašením moštu (ACKERMANN, 2003).

Síření a naležení rmutu

Použití oxidu siřičitého zamezuje oxidaci a působí jako prevence proti bakteriím. Při volbě dávky oxidu siřičitého, je nutné dbát na zdravotní stav hroznů, u nahnilých hroznů je možná aplikace přímo na hrozny. Rmut ze zdravých hroznů se zasiřuje na 50 mg/l, což je minimální hodnota doporučená pro síření rmutu (MICHLOVSKÝ, 2012).

Naležení rmutu, tzv. macerace, umožňuje extrakci látek z bobulí. Během macerace se zvyšuje obsah buketních látek, barviv, tříslovin a živin pro kvasinky v moštu. U nahnilých hroznů se macerace neprovádí. Pro zvýšení výlisnosti se používá přídavek pektinolytických enzymů (STEIDL, 2002).

U bílých aromatických odrůd (Tramín, Sauvignon) probíhá macerace jeden až dva dny. Rmut modrých odrůd se nechává naležet a prokvášet sedm a více dní (HRONSKÝ, 2006).

Macerace je velmi důležitým krokem při výrobě červených vín. Cílem je vyluhovat ze slupek barvivo a třísloviny a z dužniny získat aromatické látky. Červená barviva (antokyany) modrých odrůd jsou uložena ve slupkách. K jejich vyluhování dochází během 3 až 5 dnů, poté nastává extrakce tříslovin, které se vyluhují také ze slupek během delšího období. Vyluhování tříslovin z pečiček a stopek je nežádoucí, protože způsobují hořké a trávové aroma, jejich množství se dá regulovat délkou a teplotou macerace (STEIDL, RENNER, 2003).

V poslední době se provádí macerace při snížené teplotě (kolem 5 °C), která umožňuje delší naležení rmutu a zisk ovocného charakteru (STEIDL, 2002).

Lisování

Mošt je získáván za využití tlaku v lisu, dojde tak k oddělení šťávy z buněk bobulí (KUČEROVÁ a kol., 2007). Na začátku lisování se pracuje pomalu a je použito nízkých tlaků, tlak se zvyšuje až na závěr lisování. Lisováním celých hroznů se získá menší podíl kalů a tříslovin, celková výlisnost je však menší (STEIDL, 2002).

Při lisování celých hroznů nedochází k narušení slupek, barviva ze slupek se tak nedostanou do moštu. Technologií lisování celých hroznů se získávají světlá, lehčí vína s nižším extraktem (STÁVEK, 2013).

Dle STEIDLA (2002) vznikají při běžném lisování rmutu tři frakce:

- Samotok (scezený mošt) – mošt odtékající volně z lisu.
- Lisovaný mošt – mošt získaný použitím určitého tlaku.
- Dolisek – mošt získaný za vyšších tlaků, obsahuje více tříslovin a barviv.

K lisování se využívá celá řada lisů: horizontální mechanické a hydraulické lisy, pneumatické lisy, košové lisy a další (DOHNAL, KRAUS, 1972).

Lis je jedním z největších zdrojů infekce, zvyšuje se zde přirozený počet buněk. Mošt po vylisování může obsahovat až tisíckrát více zárodků oproti původnímu složení (STEIDL, RENNER, 2004).

Výlisnot je závislá na odrůdě, ročníku, vyzrálosti hroznů a způsobu lisování. Pohybuje se mezi 50 až 70 litry moštu ze 100 kg hroznů (KRAUS a kol., 2010).

3.7 Oxid siřičitý v enologii

Použití oxidu siřičitého ve vinařství má značný význam, tato sloučenina působí ve víně jako stabilizátor a konzervant. V běžném množství je zdravotně nezávadný, ale při vyšších koncentracích může způsobovat bolesti hlavy a může se stát zdravotně závadným. Oxid siřičitý lze aplikovat několika způsoby: použitím plynné síry z tlakových nádob, spalováním sirných knotů a aplikací disiřičitanu draselného v práškové formě – pyrosulfit (PAVLOUŠEK, 2010).

Oxid siřičitý se používá především za účelem vyvázání vzdušného kyslíku, snížení aktivity oxidačních enzymů, kvasinek a bakterií, k vyvázání acetaldehydu a dalších sloučenin, což přispívá k ochraně aroma vína (MICHLOVSKÝ, 2012).

Oxid siřičitý tvoří v roztoku kyselinu siřičitou, z které dále vzniká hydrogensulfid a sulfid. Suma těchto sloučenin tvoří volný oxid siřičitý. Volný oxid siřičitý ve víně reaguje s dalšími sloučeninami za vzniku vázaného oxidu siřičitého. Většina pozitivních účinků se připisuje volnému oxidu siřičitému. Součástí volného oxidu siřičitého je tzv. molekulární (aktivní) oxid siřičitý. Volný a vázaný oxid siřičitý tvoří tzv. celkový obsah SO₂, jehož maximální povolené množství je dáno nařízeními Evropské unie (MICHLOVSKÝ, 2012).

Stanovení koncentrace volného a vázaného oxidu siřičitého se provádí titračně pomocí roztoku hydroxidu sodného (BALÍK, 2006).

Vázaný SO₂ nepůsobí antimikrobiálně ani antioxidačně, je však schopen chránit aroma vína. Nejčastějším vazebným partnerem je acetaldehyd, který způsobuje zvětralé tóny ve víně, po jeho navázání na volný oxid síry naoxidované tóny zmizí (HRONSKÝ, 2006).

Volný oxid siřičitý má antioxidační vlastnosti, má schopnost se vázat s acetaldehydem a tvořit tak vázaný SO₂. Jeho množství v bílých vínech se pohybuje v rozmezí 30 až 70 mg/l, u červených vín je to kolem 20 mg/l (MICHLOVSKÝ, 2012).

Hlavní antimikrobiální působení se připisuje **molekulárnímu oxidu siřičitému**. Koncentrace tohoto oxidu závisí na hodnotě pH vína. Tato frakce proniká do buněk mikroorganismů a narušuje jejich růst, rozmnožování nebo způsobuje smrt buňky (DELFINI, FORMICA, 2001). Bakterie jsou na tuto formu citlivější než kvasinky. Aktivní SO₂ je důležitý proti rozvoji *Brettanomyces* a bakterií mléčného kvašení, zabráňuje také refermentaci v lahvi (MICHLOVSKÝ, 2012).

3.8 Úprava moštu

Složení moštu koreluje se složením bobulí (viz kapitola 3.4), převažující složkou je voda, následují sacharidy, kyseliny, minerální látky, dusíkaté sloučeniny, aromatické látky a polyfenoly (STEIDL, 2002).

Síření

Pokud došlo k zasíření rmutu dostatečnou dávkou, není třeba přidavek další síry do moštu (STEIDL, 2002).

Odkalení

Při odkalování moštu dochází k oddělení kalů a nečistot, v kterých jsou obsaženy kvasinky i kontaminující mikroorganismy (KUČEROVÁ a kol., 2007).

Správně odkalený mošt je základem pro čisté víno bez postranních tónů ve vůni i chuti. Neodkalené mošty rychleji prokvášejí, obsahují rezidua pesticidů a ztrácejí své aroma. Vzniklá vína z těchto moštů vykazují vyšší obsah tříslovin a nečistou chuť, jsou hůře filtrovatelná a podléhají rychlému stárnutí (STEIDL, 2002).

Odkalování moštů přirozenou cestou se nazývá sedimentace. Čím déle trvá sedimentace kalických částic, tím čistší podíl moštu zůstane nad usazenými kaly. Doporučená délka sedimentace se pohybuje v rozmezí 12 až 24 hodin. Pokud trvá sedimentace příliš dlouho, můžou nastat problémy s kvašením, kvasinky se nejsou schopny rozptýlit na chybějících kalových částicích do celkového objemu moštu (DOHNAL, KRAUS, 1972).

Délka sedimentace v hodinách a její účinky na mošt dle STEIDLA (2002):

- 3 až 4 hodiny – pouze hrubé odkalení, možné postranní tóny
- 8 až 10 hodin – dobré odkalení, pomalé kvašení, vína bez negativních tónů
- 12 až 24 hodin – velmi čisté mošty, velmi pomalé kvašení, čisté aroma

Odkalení může probíhat i pomocí odstředivek a vakuových filtrů, které se používají ve velkovýrobě (KRAUS a kol., 2010).

Odkalený mošt se přečerpá do čisté nádoby, v které se po dalších úpravách zakvasí a probíhá zde fermentace (PÁTEK, 1995).

Doslazení

V nepříznivých letech se zvyšování cukernatosti provádí přidavkem řepného cukru do moštu. Při doslazování vinař akceptuje Zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství, který upravuje podmínky zvyšování cukernatosti. U jakostních vín s přívlastkem je zakázáno zvyšování cukernatosti (PAVLOUŠEK, 2010).

Před úpravou moštu je nutné stanovit jeho cukernatost. Měření cukernatosti moštu se provádí nejčastěji moštoměrem, který udává cukernatost v stupních normalizovaného moštoměru (°NM). Stupeň NM udává množství cukru v kilogramech, obsaženého ve 100 litrech moštu (DOHNAL a kol., 1975).

Obsah cukru v moštu udává potenciální hodnotu vzniklého alkoholu. Zvýšení o 1 °NM se provede přidavkem 1 kg cukru na 100 l moštu (KRAUS a kol., 2010).

Snížení obsahu kyselin

V ročnících s vyšším obsahem kyselin je odkyselení velmi důležitým krokem. Vína a mošty s vyšším obsahem kyselin sice zaručují lepší mikrobiální stabilitu, ale jsou sensoricky nepřijatelné (STEIDL, 2002).

U moštů s obsahem kyselin 10 g/l a větším, by se mělo provést odkyselení (FELDKAMP, 2003).

Redukce kyselin může probíhat již v moštu, což má nejmenší sensorický dopad na víno, nebo přímo ve víně. Před redukcí kyselin je nutné udělat laboratorní rozbor moštu na kyseliny, který nám prozradí přesné zastoupení jednotlivých kyselin. V moštu je možné kyseliny redukovat za použití uhličitanu vápenatého. Jednoduché odkyselení nám zredukuje větší množství kyseliny vinné, která je sensoricky významná. Proto se používá tzv. podvojně odkyselení, které je technologicky náročnější, ale nedojde k takovým ztrátám kyseliny vinné (NOVOTNÝ, 2014).

Další možností redukce kyselin je jejich biologické odbourání pomocí bakterií *Oenococcus oeni* (PTÁČEK, 2014d).

Úprava bílkovin a tříslovin

Bílkoviny ve víně tvoří koloidní zákaly, jejich odstranění (číření) se provádí pomocí různých druhů bentonitů. Čím dříve se tento proces provede, tím menší dopad má na kvalitu vína. Největší nevýhodou číření moštu je snížení výživných látek pro kvasinky (STEIDL, 2002).

Při nešetrném zpracování hroznů dochází k vyluhování většího obsahu tříslovin, který vede k neelegantním a hrubým vínům (STEIDL, 2002).

K redukci trpkých tónů se využívají přípravky na bázi želatiny a PVPP – polyvinylpolypyrrolidon (PTÁČEK, 2014a).

3.9 Kvasný proces

Základem tradiční výroby vína je po staletí spontánní fermentace hroznového moštu. Tuto fermentaci zajišťují různé druhy kvasinek, které pochází z hroznů a vinařského vybavení. Víno vyrobené spontánní fermentací je označováno jako tzv. selské víno.

V poslední době byla spontánní fermentace nahrazena řízeným kvašením s přidavkem čistých kultur kvasinek (FLEET, QUEROL, 2006).

Použití komerčních kultur kvasinek vede k výrobě uniformních produktů. Proto se v dnešní době upouští od zákvasu čistými kulturami. Vinaři hledají alternativu, jak vyrobit originální vína, k čemuž stále více využívají fermentaci s autochtonními kvasinkami (DEAK, 2008).

3.9.1 Kvasinková mikroflóra moštu

S hrozny z vinice přichází jen 1 až 3 % žádoucích kvasinek. Druh *Saccharomyces cerevisiae* je zastoupen v malém množství. V značné míře jsou zastoupeny apikulární (přirozené) kvasinky, které ve větší míře produkují kyselinu octovou. Největší zastoupení z přirozeně se vyskytujících kvasinek mají *Kloeckera apiculata* a *Candida*. Při prvotní fázi spontánní fermentace dosahuje podíl těchto divokých kvasinek 90 a více procent. Od 4 % obj. alkoholu začínají převládat pravé vinné kvasinky, označovány jako ušlechtilé (STEIDL, RENNER, 2004).

3.9.2 Zakvášení moštu

Na kvalitu vína má vliv řada faktorů, jedním z nich je i druh použitých kvasinek (VRÁNOVÁ, 2015).

Čistá kultura kvasinek

Čisté kultury byly vytvořeny v laboratorních podmínkách pomnožením z jedné buňky. Kvasničné kultury jsou dodávány v kapalně, nebo suché formě (FARKAŠ, 1983).

Moderní enologie je dnes založena na izolaci a selekci nejlepších kmenů kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces bayanus*, které se využívají jako čisté kultury pro kvašení moštů (PAVLOUŠEK, 2010).

Pro rychlý start fermentace je potřeba kolem 2 až 4 milionů buněk kvasinek na jeden mililitr moštu. Toho lze dosáhnout přidavkem čistých kultur kvasinek. Dnes se převážně používají aktivní suché vinné kvasinky (ASVK). Mezi hlavní důvody použití čistých kultur patří: rychlé rozkvašení, úplné a bezproblémové prokvašení, žádná tvorba vedlejších produktů, snášenlivost alkoholu, žádná tvorba SO₂ a snášenlivost různých podmínek během fermentace. Na trhu je nabízeno velké množství kultur pro různé styly

vín – kvasinky pro studené kvašení, odrůdové kvasinky, sektové kvasinky, aromové kvasinky a další (STEIDL, RENNER, 2004).

Při použití čistých kultur je nutné počítat s tím, že takto vyrobená vína od různých výrobců a z odlišných oblastí, si mohou být dosti podobná. Použití ASVK tak přispívá k uniformitě vín (SOCHOR, 2013b).

Před použitím ASVK je nutná jejich aktivace. Čisté kultury se aplikují do roztoku vody s moštem o teplotě 38 až 40 °C. Roztok s kulturou je udržován při teplotě 30 °C po dobu 30 minut, aby došlo k aktivaci kvasinek. Poté je mošt zakvašen, teplota moštu a zákvasu se nesmí lišit o více než 8 °C (PAVLOUŠEK, 2010).

Spontánní fermentace

Spontánní fermentace probíhá samovolným rozmnožením původních kvasinek v moštu. Nástup fermentace je pomalejší. Spontánní fermentace může zajistit vznik typického odrůdového charakteru, ale nikdy se neví, který druh kvasinek se prosadí, a tak je výsledek fermentace ponechán náhodě (STEIDL, 2002).

Divoké kvasinky produkují větší množství glycerolu, těkavých kyselin a oxidu siřičitého (HRONSKÝ, 2006).

Autochtonní kvasinky

Autochtonní (původní, originální) kvasinky jsou ty, které se přirozeně vyskytují na hroznech ve vinici. Dodávají vínu originalitu vycházející z dané lokality, kde se vinice nachází. Použití těchto kvasinek je jedna z tradičních cest, jak podpořit odrůdový charakter vína (VRÁNOVÁ, 2015).

Žádoucí jsou autochtonní kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, které vznikají bez genetické manipulace a je možné je použít v podobě čisté kultury. V dnešní době jsou jedinou cestou k zachování terroir vín. Pro vlastní zákvas je nutné posbírat menší množství hroznů z dané vinice. Hrozny se sbírají asi týden před plánovanou sklizní. Z hroznů se získá mošt, který se nesmí ostře odkalit. Počká se, až ušlechtilé kvasinky začnou převažovat nad apikulátními, což je většinou kolem 3 až 5 % obj. alkoholu (ve stádiu burčáku). Takto vytvořeným zákvasem se zaočkuje připravený mošt (FURDÍKOVÁ, MALÍK, 2007).

3.9.3 Alkoholová fermentace

Základním biochemickým procesem při výrobě vína je alkoholové kvašení, na kterém se podílí několik rodů kvasinek: *Brettanomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* a další. Kvasinky jsou schopny využívat dva nejvýznamnější cukry v moštu, glukózu a fruktózu. Ty jsou do buňky přijímány transportními bílkovinami. Dále mají kvasinky schopnost rozštěpit sacharózu, která se používá k doslazování moštů, na glukózu a fruktózu. Během fermentace vzniká alkohol (etanol), oxid uhličitý a další produkty. Oxid uhličitý je nutné odvětrávat, z nádob přechází přes kvasnou zátku a uvolňuje se do prostředí. Mezi vedlejší produkty patří glycerol, kyselina mléčná, kyselina octová, aceton, diacetyl, estery a další (PAVLOUŠEK, 2010).

Hlavní reakcí alkoholového kvašení je přeměna cukru na etanol a oxid uhličitý. Z jednoho molu glukózy vzniknou dva moly etanolu a dva moly oxidu uhličitého. Tzn., že ze 100 g glukózy vznikne 51,1 g etanolu a 48,9 g oxidu uhličitého. Ve skutečnosti však vznikne 47 až 48 g etanolu a zbytek připadá na jiné produkty (STEIDL, 2002).

Na začátku je mošt rozkvášen divokými kvasinkami (nepoužijí-li se ASVK). Jakmile obsahuje mošt 3 až 5 % obj. alkoholu, nastává změna v kvasničné mikroflóře. Apikulární kvasinky *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia* a další jsou usmrceny alkoholem a iniciativu přebírají právě vinné kvasinky (KRAUS a kol., 2010).

Aby mohl vzniknout výsledný produkt fermentace, je zapotřebí průběhu složitých enzymových procesů, které přeměňují vstupní surovinu přes meziprodukty až na výslednou složku. Mezi základní reakce patří fosforylace cukru, defosforylace, dekarboxylace a redukce, tyto reakce jsou doprovázeny enzymy, např. hexokinázou, aldolázou, enolázou, alkoholdehydrogenázou atd. (FARKAŠ, 1983).

Během kvašení se kromě hlavních složek vytváří i kvasné aroma, tzv. sekundární buket. Za ten jsou zodpovědné kvasinky (STEIDL, 2002).

V moderním sklepním hospodářství se vyrábějí vína tzv. řízeným kvašením, které zaručuje minimální tvorbu vedlejších produktů. Během řízeného kvašení probíhá kontrola teploty. Kvašení moštů probíhá při nižších teplotách. Velmi často je řízené kvašení spojeno s přidavkem čistých kultur kvasinek, výživy, použitím enzymů a různých preparátů (HRONSKÝ, 2006).

Tabulka 2: Zastoupení kvasinek v moštu během fermentace (STEIDL, 2002)

Počátek kvašení	Hlavní kvašení	Závěrečné dokvácení
<i>Kloeckera apiculata</i> , <i>Met-</i> <i>schnikowia pulcherima</i> , <i>Can-</i> <i>dida stellata</i> , <i>Kloeckera corti-</i> <i>cis</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida</i> <i>vini</i> , <i>Hansenula anomala</i> , <i>Hansenula subpelliculosa</i> , <i>Pichia membranaefaciens</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>subspec. cerevisiae</i> , <i>Saccha-</i> <i>romyces cerevisiae subspec.</i> <i>uvarum</i> , <i>Saccharomyces ce-</i> <i>revisiae subspec. bayanus</i> , <i>Saccharomyces chevalieri</i> , <i>Torulaspora delbrueckii</i> , <i>Zygosacch. rouxi</i> , <i>Kluyvero-</i> <i>myces thermotolerans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>subspec. cerevisiae</i> , <i>Saccha-</i> <i>romyces cerevisiae, subspec.</i> <i>bayanus</i>

3.9.4 Faktory ovlivňující kvasný proces

Teplota

Teplota je jedním z nejdůležitějších faktorů fermentace. Optimální teplota pro množení buněk kvasinek je kolem 25 °C. Při vyšších teplotách dochází k ztrátám aromatických látek a alkoholu, vzniká větší množství těkavých kyselin. Červená vína kvasí při vyšších teplotách než vína bílá. V poslední době se u bílých moštů využívá chladné kvašení, kde se teplota pohybuje kolem 15 až 18 °C. Studená fermentace podporuje aroma vína a vznik svěží kyselinky (STEIDL, 2002).

Obsah cukru v moštu

Vysoký obsah cukru v mošttech způsobuje zvýšený osmotický tlak, tím může docházet k odnímání vody z buněk kvasinek. Z tohoto důvodu se pro výrobu vín s vyšším přívlastkovým stupněm volí osmotolerantní druhy kvasinek (STEIDL, RENNER, 2004).

Obsah alkoholu

Divoké kvasinky jsou utlumovány při hodnotách 3 až 4 % obj. alkoholu. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jsou schopny prokvášet do hodnot 12 až 13 % obj. alkoholu. Při vyšším obsahu alkoholu provádějí dokvácení kvasinky *Saccharomyces baya-*

nus, které jsou schopny se rozmnožovat do obsahu alkoholu 15 až 16 % obj. (PAVLOUŠEK, 2010).

Mezi další faktory ovlivňující fermentaci patří: obsah oxidu siřičitého, obsah asimilovatelného dusíku, stupeň odkalení moštu, obsah těkavých kyselin a další (FARKAŠ, 2002).

3.10 Kvasinky

Kvasinky patří mezi heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, náležící do říše hub (*Fungi*). Většina druhů má schopnost zkvašovat monosacharidy, případně disacharidy a trisacharidy za produkce etanolu a oxidu uhličitého (BABÍKOVÁ, 2010). Jsou schopny se rozmnožovat vegetativním i pohlavním způsobem. Vegetativně se kvasinky rozmnožují především pučením, v menší míře pak dělením buněk (FARKAŠ, 1983).

3.10.1 Přehled nejvýznamnějších rodů kvasinek

Dle KREGER-VAN RIJOVÉ in ŠILHÁNKOVÁ (2002) se kvasinky dělí dle způsobu rozmnožování do tří hlavních skupin:

- Rody tvořící askospory – *Ascomycotina*, nejdůležitější rody spadající do *Ascomycotina*: *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Metschnikowia* a *Saccharomycodes*.
- Rody tvořící bazidiospory nebo sporidie a heterokaryotní mycelium s přezkami – *Basidiomycotina*.
- Rody u nichž není známa tvorba pohlavních spor – *Deuteromycotina*, rody významné ve vinařství: *Candida*, *Brettanomyces* a *Kloeckera*.

Rod *Saccharomyces*

Tyto druhy mají schopnost zkvašovat několik cukrů, nevyužívají laktosu jako zdroj uhlíku (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Kvasinky tohoto rodu se nejvíce vyskytují v moštech, jsou také součástí kontaminující mikroflóry zařízení ve vinařských podnicích. Za nejdůležitější druh je považován *S. cerevisiae*, který se ve zvýšené míře nachází v kvasících moštech a vínech (ŠVECJAR, MINÁRIK, 1981).

S. cerevisiae se používá ke kvašení vín ve formě čisté kultury, buňky mají kulatý nebo oválný až protáhlý tvar. Všechny kmeny jsou glukofilní (HRONSKÝ, 2006).

Důležitým rodem je také *Saccharomyces bayanus*, který je také obsažen v čistých kulturách. Kvasinky *S. bayanus* odolávají vyšším koncentracím alkoholu a oxidu siřičitého. Při vyšším obsahu alkoholu nahrazují *S. cerevisiae* a dokončují tak kvašení vín s větší koncentrací alkoholu (FURDÍKOVÁ, MALÍK, 2007).

Rod *Zygosaccharomyces*

Tento rod snáší větší množství glukózy v prostředí, je tedy osmotolerantní, a často je příčinou kažení potravin a nápojů s vysokým obsahem cukru (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Z. rouxi a *Z. bailii* jsou odolné vůči vyšším koncentracím alkoholu a oxidu siřičitého. Jsou obávanými kontaminanty vín, z hlediska tvorby křísu (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Rod *Pichia*

Tento rod se vyznačuje nízkou fermentační schopností. Jeho druhy jsou schopny zkvašovat jen glukózu. Ve špatně uzavřených lahvích a za přístupu vzduchu vytváří na povrchu vína křís (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Druhy tohoto rodu se v moštích a vínech vyskytují jen zřídka. Všechny druhy mají schopnost vytvářet na povrchu vína bílý až hnědý povlak a prstence v hrdlech lahví. Ve vínech byly identifikovány druhy *P. membranaefaciens*, *P. farinosa* a *P. vini* (HRONSKÝ, 2006).

Na počátku kvašení *Pichia membranaefaciens* vytváří na povrchu moštu šedivý povlak, v kterém jsou uzavřeny vzduchové bubliny. Povlak dává moštu nepříjemnou vůni a chuť (KUTTELVAŠER, 2003).

Rod *Schizosaccharomyces*

Tento rod se vyznačuje dobrými kvasnými schopnostmi, buňky mají obdélníkový tvar. Druh *S. pombe* je schopen využívat kyselinu jablečnou a může tak sloužit při odkyselení vín (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Využití rodu *Schizosaccharomyces* k odkyselování vín je však spojené s řadou technologických problémů. Během kvašení je tento rod schopen vytvářet značné množství sirovodíku, z tohoto důvodu se v praxi nepoužívá (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Rod *Candida*

Rod *Candida* je značně rozsáhlý, obsahuje kolem 160 druhů. Zahrnuje nekvasící druhy, ale i druhy se silnou fermentační schopností (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Někteří zástupci tohoto rodu se vyskytují na hroznech (*C. pulcherrima*). *C. pulcherrima* je zodpovědná za zahájení spontánní fermentace, její prokvášecí schopnost je však malá a je inhibována dosažením hladiny alkoholu 1 až 2 % obj. Jiné druhy bývají často složkou mikroflóry mladých vín (*C. vini*, *C. krusei*). *C. krusei* a především *C. vini* způsobují tvorbu křisu ve vínech s menší koncentrací alkoholu (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Rod *Brettanomyces*

Rod *Brettanomyces* je schopen za přístupu kyslíku produkovat z cukrů značné množství kyseliny octové (tzv. Custer efekt). Buňky těchto kvasinek jsou často na jednom pólu zašpičatělé (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Brettanomyces jsou pomalu kvasící kvasinky, které jsou odolné k vyšší koncentraci alkoholu a umějí prokvasit i velmi malé množství zbytkového cukru. Vlivem jejich enzymového vybavení dochází k rozkladu fenolů na produkty způsobující živočišné tóny. Tyto speciální kvasinky tak způsobují chorobu vína, která se projevuje jako: tón po koňském potu, tón po koňské stáji, po kůži, medicínální tón apod. Náchylná jsou především silná červená vína, která zrála v sudech, ale také vína šumivá (EDER, 2006).

Mezi hlavní zástupce tohoto rodu patří *B. anomalus* a *B. bruxellensis* (FLEET, QUEROL, 2006).

Rod *Kloeckera*

Tento rod tvoří zašpičatělé buňky na jednom konci, velmi dobře snáší kyselé prostředí, často tak bývá kontaminantem moštů z nezralých hroznů (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Kloeckera sp. je významnou součástí mikroflóry hroznů, tvoří 50 až 75 % celkových kvasinek na povrchu hroznů (FLEET, QUEROL, 2006).

Kvasinky *Kloeckera* tvoří hlavní podíl spontánní kvasinkové mikroflóry v moštu, typickým zástupcem je *Kloeckera apiculata*. *Kloeckera* patří mezi kvasinky, které zahajují spontánní fermentaci, její prokvášecí schopnost je asi do 4 až 5 % obj.

alkoholu. Na její aktivitu poté navazují kvasinky rodu *Saccharomyces* (HRONSKÝ, 2006).

3.11 Malolaktická fermentace

V nepříznivých ročnících je v moštích nadbytek ostré kyseliny jablečné, jejíž obsah je nežádoucí hlavně v červených vínech (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

Malolaktická fermentace (MLF) je cestou, jak odbourat senzoricky nepříjemnou kyselinu jablečnou. Během tohoto biochemického procesu je kyselina jablečná přeměněna na kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. Malolaktická fermentace bývá označena také jako: jablečno-mléčné kvašení a biologické odbourání kyseliny jablečné (DELFINI, FORMICA, 2001).

Dikarboxylová kyselina jablečná je během MLF nahrazována monokarboxylovou kyselinou mléčnou, což vede k zjemnění chuti a snížení kyselosti (SOCHOR, 2013a).

Z 1 g kyseliny jablečné vznikne 0,67 g kyseliny mléčné, oxid uhličitý a další sekundární produkty. V odbouraném víně se množství kyseliny mléčné běžně pohybuje v rozmezí 0,5 až 1,5 g/l. Množství větší než 2 g/l vzbuzuje podezření na přídavek mléčné kyseliny (EDER, 2006).

Vlivem vzniku kyseliny mléčné se víno stane plnějším a sametovějším. Po této fermentaci se také stává mikrobiálně stabilnějším. Bakterie mléčného kvašení provádějící malolaktickou fermentaci patří k rodům *Oenococcus*, *Lactobacillus* nebo *Pediococcus* (STEIDL, 2002).

V enologii se jako čistá kultura pro MLF používá bakterie *Oenococcus oeni* (dříve *Leuconostoc oenos*). Preparát s touto bakterií se musí skladovat při nízkých teplotách (mražák, lednička). Aktivace se provádí podobně jako u kvasinkových preparátů, tedy rehydratací (PTÁČEK, 2014d).

Pro zahájení malolaktické fermentace je potřeba 10^6 CFU/ml (CARRASCOSA a kol., 2011).

Během MLF dochází k výrazným chemickým změnám, které mají vliv na charakter a aroma vína. Kromě kyseliny mléčné a oxidu uhličitého může vznikat také kyselina octová a látky spojené s touto fermentací, např.: diacetyl a acetoin (BAROŇ, 2013).

Především diacetyl je zodpovědný za aroma po MLF. Práh jeho vnímání se pohybuje v rozmezí 0,2 až 5 mg/l. Diacetyl vyvolává mléčné tóny, tóny po jogurtu, smeta-

ně, ale také po lískovém oříšku. Diacetyl vzniká z bakteriálního odbourání kyseliny citronové (SCHNEIDER, 2014).

MLF může probíhat spontánně i řízeně. Spontánní vývoj může vést ke vzniku nežádoucích produktů. Při řízené MLF dochází k inokulaci bakterií po ukončení alkoholového kvašení (PAVLOUŠEK, 2010).

Může však docházet i k aplikaci bakterií současně s kvasinkami při zahajování alkoholové fermentace. Tento proces se nazývá koinokulace a používá se především u bílých vín (např. Ryzlink rýnský). Předností koinokulace je zachování ovocných tónů a eliminace negativních senzorických vlivů po MLF (VIDLÁŘ, 2014).

K cílenému zastavení MLF, nebo k potlačení vývoje nežádoucích bakterií mléčného kvašení se využívá lysozym. Lysozym je specifický enzym, který způsobuje odumírání bakterií mléčného kvašení. Nejvyšší povolená dávka k zabránění MLF je 50 g/hl. Doba působení lysozymu je maximálně 4 až 6 týdnů. V praxi se lysozym využívá především k ochraně vín s vyšší hodnotou pH a se zbytkovým cukrem, u kterých by mohla nastat malolaktická fermentace. Lysozym nepůsobí na octové bakterie ani kvasinky (PAVLOUŠEK, 2010).

Hodnota pH je důležitým faktorem pro průběh MLF. Při pH nižším než 2,9 jsou bakterie mléčného kvašení inhibovány. Při pH nad 3,5 může docházet k zvrhnutí a tvorbě nežádoucích produktů jako je kyselina octová (BAROŇ, 2013).

U vín se zbytkovým cukrem a hodnotou pH nad 3,5 *Oenococcus oeni* preferuje cukry před kyselinou jablečnou. Při hodnotě pH vyšší než 3,5 dochází také k rozvoji ostatních bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Pediococcus*) a mikroorganismů. Glukóza a fruktóza jsou rozkládány na kyselinu mléčnou, kyselinou octovou, etanol a oxid uhličitý. Kyselina jablečná je v menším množství přeměněna na kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. U suchých vín s pH pod 3,5 dominuje *Oenococcus oeni* a nedochází k rozvoji dalších bakterií. Při této hodnotě pH *O. oeni* preferuje kyselinu jablečnou, z které vytváří kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. Z kyseliny citronové vytváří kyselinu octovou a diacetyl, vzniklé množství je však velmi malé ve srovnání s provedenou MLF při pH nad 3,5 (BAROŇ, 2013).

Dalším faktorem, který ovlivňuje MLF je množství SO₂. Bakterie jsou velmi citlivé na oxid siřičitý. Nejlépe se MLF provádí při nulové přítomnosti SO₂. Toto kvašení lze

však provést i s obsahem SO₂, a to do 20 mg/l volného a do 50 mg/l vázaného (BAROŇ, 2013).

Optimální teplota je v rozmezí 18 až 22 °C. Bakterie mléčného kvašení jsou inhibovány nad 13 % obj. alkoholu (VIDLÁŘ, 2014).

Bakterie mléčného kvašení potřebují pro svůj růst živiny. Ideální prostředí je zajištěno jemnými kvasničnými kaly, v kterých se vlivem autolýzy uvolňují potřebné živiny (BAROŇ, 2013).

3.12 Ošetření a stabilizace vína

Školení vína zahrnuje pracovní postupy při tvorbě vína od jeho počátku až po lahovování. Péči o víno se vytváří jeho konečné organoleptické vlastnosti a celkový charakter. Cílem každého školení vína je dosáhnout stabilního a vysoce kvalitního produktu (KUČEROVÁ a kol., 2007).

Po skončení kvašení by se s vínem mělo co nejrychleji pracovat, další operace se odvíjí od typu požadovaného vína a zdravotního stavu kvasnic (STEIDL, 2002).

Stáčení

Stáčení je jedna z prvních operací, která se provádí po fermentaci vína. Cílem je oddělit víno od kalů usazených na dně nádoby a podpořit tak samočištění vína. Kaly obsahují drobné částičky, které se neodstranily při odkalování moštu, dále obsahují kvasinky a řadu mikroorganismů. Víno se stáčí pomocí hadiček a čerpadel, nemělo by však přijít do kontaktu se vzduchem. Doba prvního stáčení závisí na zdravotním stavu kvasnic a obsahu kyselin. Vína s vyšším obsahem kyselin leží na kalech déle, dojde tak k jejich biologickému snížení (PÁTEK, 2000).

Doplňování nádob

Po skončení fermentace je důležité dolévání nádob. Víno skladované v nenaplněných nádobách podléhá rychle oxidaci, je náchylné na vady a nemoci a dochází k jeho ztrátám vlivem výparu. Nádoby se dolévají nejlépe odrůdově a ročníkově stejným vínem. Okolí hrdla a zátky se utírá do sucha, aby nedocházelo ke styku vína se vzduchem, který by vedl k pomnožení octových bakterií (KRAUS a kol., 2010).

Síření

Při manipulaci s vínem dochází k jeho styku se vzduchem. Proto je nutné víno chránit před oxidací a před pomnožením nežádoucích mikroorganismů. Dávka oxidu siřičitého se odvíjí od parametrů vína. Suchá a zdravá vína s vyšším obsahem kyselin vykazují lepší mikrobiologickou stabilitu, a proto není nutné vysokých dávek oxidu siřičitého. Vína s vyšším zbytkovým cukrem a nižšími kyselinami vyžadují udržování vyšší hladiny síry. K záměrnému zastavení fermentace se také používají vyšší dávky oxidu siřičitého (PAVLOUŠEK, 2010).

Pozn.: účinky a formy používané síry byly popsány v kapitole 3.7

Číření

Čířící prostředky pomáhají uchovat víno stabilní během skladování v různých podmínkách. Číření se také využívá místo filtrace a k odstranění nepříjemných chutí a vůní (STEIDL, 2002). Nejčastěji se k číření využívají bentonity a želatina. Bentonity jsou přípravky na bázi zeminy, obsahující silikáty vápníku, sodíku a hliníku. Mají záporný elektrický náboj a vyznačují se značnou adsorpční schopností vůči rozpuštěným bílkovinným látkám ve víně (STEIDL, 2002). Želatina je bílkovinný preparát s kladným elektrickým nábojem. Používá se za účelem snížení obsahu tříslovin. Želatina vytváří s tříslovinami komplex, který sedimentuje na dno nádoby (PAVLOUŠEK, 2010).

Úprava kyselin

Úprava kyselin ve víně je založena na stejných principech jako úprava kyselin v moštu, viz kapitola 3.8.

Stabilizace vinného kamene

Důležitým krokem před lahvováním vína je zabránit vypadávání vinného kamene. Vinný kámen je draselná sůl kyseliny vinné, za přítomnosti alkoholu dochází ke snížení její rozpustnosti a vinný kámen se vysráží ve formě krystalků. Ke stabilizaci proti vypadávání vinného kamene se používá přípravek s CMC (karboxymethylcelulosa) nebo přídavek kyseliny metavinné (PTÁČEK, 2014b).

Další možností jak víno stabilizovat je snížením teploty. Víno je zchlazeno těsně pod teplotu 0 °C, čímž dojde k vysrážení přebytečné kyseliny vinné ve formě vinného kamene (PRIEWE, 2003).

Čištění a filtrace vína

Působením gravitace dochází k usazování pevných částic na dno nádoby. Rychlost vlastního čištění vína je pomalá. V dnešní době je kladen důraz na rychlé vyčištění vína a jeho export z podniku, z tohoto důvodu se používá filtrace (STEIDL, 2002).

Filtrace je separační metoda, která odděluje pevné části suspenze od části tekuté. K tomu je využíván průtok tekutin přes vrstvu filtračního materiálu (STÁVEK, 2013).

Cílem filtrace je odstranění zákalů, mikroorganismů a získání jiskrného a stabilního vína. Jako filtrační materiály se používají celulóza, křemelina a perlit (KRAUS a kol., 2010).

Filtrace může probíhat na různých typech filtrů s odlišnou účinností. V praxi se používá křemelinová filtrace, deskové filtry a membránová filtrace (HRONSKÝ, 2006).

Membránová filtrace je nejspolehlivější z hlediska zachycení mikroorganismů, používají se zde tzv. filtrační svíčky. Filtrační svíčky na kvasinky mají pórovitost 0,65 μm (velikost kvasinek je kolem 2,5 μm), na octové bakterie a bakterie mléčného kvašení se používají póry od 0,2 μm do 0,45 μm . Víno je před nanesením na membránový filtr nutno předfiltrovat, aby nedošlo k zanesení pórů svíček filtru (PAVLOUŠEK, 2010).

Zrání vína

Zrání vína začíná již při jeho stočení z kalů. Při zrání dochází k fyzikálním, chemickým a biochemickým změnám, které ovlivňují charakter vína. Největším změnám podléhají kyseliny, které se mohou vysrážet ve vinný kámen. Při zrání se vytváří i celkový buket vína (HRONSKÝ, 2006).

Zráním víno získává své odrůdové vlastnosti, které se projevují v chuti a vůni. Po dosažení sudové zralosti, tj. zralosti získané ležením v nádobách, u které se nepředpokládá další vývin, je víno lahvováno. V lahvích poté víno zraje do lahvové zralosti. Délka zrání závisí na mnoha faktorech, nejdůležitějším z nich je teplota (PÁTEK, 2000).

Lahvování

Před lahvováním víno musí být natolik stabilní, aby během jeho skladování nedocházelo ke vzniku usazenin a zákalů. Termín lahvování by měl být zvolen tak, aby vrchol vývoje vína byl dosažen v lahvi. Bílá ovocná vína se lahvuji 3 až 6 měsíců po fermentaci. Dalším důležitým krokem před lahvováním je nastavení oxidu siřičitého.

Pro mikrobiální stabilitu je důležitá hladina molekulárního SO₂, která by se měla pohybovat mezi 0,6 až 1,2 mg/l. U červených vín je potřebná hladina molekulárního SO₂ alespoň 1,1 mg/l z hlediska potlačení kvasinek *Brettanomyces*. Bakterie jsou potlačeny při 0,6 až 0,8 mg/l molekulárního SO₂ (MICHLOVSKÝ, 2015).

Nejjednodušší způsob, jak naplnit víno do lahví, je plnění pomocí hadičky, kde je využíváno rozdílných výšek hladin. Další možností je použití plnicího zařízení, větší provozy využívají plnicí sestavy, jejichž součástí je i filtr a čerpadlo. Pro správně provedené lahvování je nezbytná sanitace a čistota. Všechny věci přicházející do styku s vínem musí být v čistém a nejlépe sterilním stavu (PTÁČEK, 2014c).

Lahve jsou po naplnění uzavřeny zátkou. Mezi typické uzávěry patří přírodní korek, plastová zátka, korunkový uzávěr, skleněný uzávěr a šroubovací uzávěr. Láhve jsou skladovány při teplotách 10 až 12 °C (STEIDL, 2002).

3.13 Zatřídování a kontrola vína orgánem SZPI

Rozdělení tichých vín dle Zákonu č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (RADA a kol., 2012) :

Zemské víno

Tento název smí výrobce použít, jestliže víno bylo vyrobeno z hroznů révy vinné, které dosáhly cukrnatosti nejméně 14 stupňů normalizovaného moštoměru a byly sklizeny na území České republiky (tj. ve vinařské oblasti Čechy nebo Morava) a zpracovány v dané vinařské oblasti.

Jakostní víno

Víno smí být označeno názvem jakostní, pokud dosáhly hrozny révy vinné cukrnatosti nejméně 15 stupňů normalizovaného moštoměru a byly sklizeny a zpracovány v jedné vinařské oblasti. Toto víno bylo inspekcí zatříděno jako jakostní víno.

Jakostní víno s přívlastkem

Toto víno lze uvést na trh, jestliže bylo vyrobeno z hroznů révy vinné sklizených ve stejné vinařské podoblasti a zpracovaných v dané vinařské oblasti. Původ a cukrnatost hroznů byla ověřena inspekcí a vyrobené víno bylo Inspekcí zatříděno jako jakostní

víno s přívlastkem. U jakostního vína s přívlastkem není povoleno zvyšování cukernatosti přidáváním cukru.

Jakostní víno s přívlastkem se vyrábí v několika druzích:

a) kabinetní víno

Vinné hrozny použité k výrobě tohoto vína dosáhly cukernatosti alespoň 19 stupňů normalizovaného moštoměru.

b) pozdní sběr

Pozdní sběr je možné použít pro víno vyrobené z hroznů o cukernatosti nejméně 21 stupňů normalizovaného moštoměru.

c) výběr z hroznů

Hrozny použité k výrobě tohoto vína dosáhly cukernatosti minimálně 24 stupňů normalizovaného moštoměru.

d) výběr z bobulí

Obsah cukru v moštu je alespoň 27 stupňů normalizovaného moštoměru. Do jakostního vína s přívlastkem výběr z bobulí náleží ledové a slámové víno. Ledové víno je povoleno vyrábět z hroznů sklizených při teplotách minus 7 °C a nižších. Slámové víno lze vyrábět z hroznů, které byly skladovány na slámě či rákosu, nebo byly zavěšeny ve větraném prostoru po dobu nejméně tří měsíců.

e) výběr z cibéb

Surovinou pro výrobu vína jsou přezrálé bobule většinou napadené ušlechtilou plísní šedou *Botrytis cinerea*. Bobule dosáhly cukernatosti nejméně 32 stupňů normalizovaného moštoměru.

Jakostní víno a jakostní víno s přívlastkem podléhají zatřídění vína. Zatřídění a hodnocení vína provádí Komise inspekce pro hodnocení a zatřídování vína. Členy komise jsou osoby, které mají platné osvědčení o složení senzorických zkoušek prováděných SZPI. Výrobce vína podá žádost o zatřídění vína, k níž je nutné přiložit výsledky analytických rozborů (celkový obsah alkoholu, obsah cukru a bezcukerného extraktu, celkový obsah SO₂, obsah volného SO₂, obsah těkavých kyselin, celkový obsah kyselin atd.)

provedených akreditovanou laboratoří. Dále žadatel dodá dva vzorky pro hodnocení komisí (SZPI, 2014).

Výroba a hygiena vinařských produktů spadá pod zákon č. 110/1997 Sb. a dále pod Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004, které stanoví obecná pravidla pro hygienu potravin. Z tohoto nařízení má výrobce vína povinnost stanovit kritické body (systém HACCP) a jimi se řídit. Možným zdrojem nebezpečí se zdravotním rizikem v sektoru vína je biologické nebezpečí (bakterie, kvasinky), chemické nebezpečí (cizí příměsi) a další možné nebezpečí, např.: skleněné střepy a další (STEIDL, 2002).

3.14 Technologicky významné plísňe a bakterie

3.14.1 Plísňe

Plísňe jsou mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy, patřící mezi houby. Základ plísni tvoří vlákna (hyfy), která mohou být jednobuněčná, nebo vícebuněčná. Hyfy plísni mají schopnost se větvit a tvořit spleti různých útvarů s řadou funkcí (mycelium). Plísňe se mohou rozmnožovat rozrůstáním hyf, nebo sporami (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Aerobní povaha a široké enzymové vybavení umožňuje plísním napadat nejrozličnější organický materiál. Plísňe mají schopnost se rozmnožovat i při nízkých hodnotách pH a při poměrně nízké vodní aktivitě. Velmi dobře využívají i vzdušnou vlhkost, rozmnožují se na stěnách vinných sklepů a nádobách s vínem (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Rod *Mucor*

Tento rod náleží do třídy *Zygomycetes*, která je charakteristická jednobuněčným (tj. nepřehrádkovaným) myceliem a pohlavním rozmnožováním s tvorbou zygospor. Nepohlavní rozmnožování probíhá endosporami (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Rod *Mucor* napadá popadané bobule hroznů, z kterých se může dostávat až do moštu. V moštu dochází k rozpadu hyf na okrouhlé oidie, které jsou schopny zkvašovat cukr za tvorby acetaldehydu a glycerolu. Na bobulích a v moštu je nejvíce zastoupen *Mucor racemosus* (FARKAŠ, 1983).

Rod *Aspergillus*

Aspergillus spadá do třídy *Ascomycetes*, pro kterou je typické přehrádkované mycelium a pohlavní rozmnožování za tvorby askospor, nepohlavní rozmnožování probíhá exosporami. Rod *Aspergillus* má široké enzymové vybavení, toho se využívá pro průmyslovou přípravu enzymů do potravinářského průmyslu. Některé druhy se využívají pro výrobu organických kyselin (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Aspergillus se vyskytuje jak na vinicích, tak ve vinných sklepech. Ve vinařském průmyslu se objevuje více druhů, nejčastěji *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus* a *Aspergillus ruber* (FARKAŠ, 1983).

Barva vytvářených kolonií bývá často žluto-zelená, výjimkou nejsou však ani bílé a černé kolonie (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Aspergillus niger je všude přítomná plíseň. Nachází se na hroznech, v půdě a ve vzduchu. Barva mycelia přechází z prvotní bílé přes žlutou až do hnědé. *Aspergillus ruber* se vyskytuje na korkových zátkách vinných lahví. Hyfy této plísni produkují červené barvivo (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Aspergillus glaucus napadá dřevěné sudy a korkové zátky, pokud přijde víno do styku s tímto kontaminovaným materiálem, může v něm vzniknout nepříjemná chuť po plísni (FARKAŠ, 1983).

Rod *Penicillium*

Stejně jako rod *Aspergillus* spadá rod *Penicillium* do třídy *Ascomycetes*. Houby tohoto rodu se nacházejí zejména na hroznech. Při styku vína s touto plísni dochází ke vzniku pachuti po plísni, která se z vína těžko odstraňuje. *Penicillium expansum* se vyskytuje na poškozených hroznech a na nezralých hroznech, na kterých často způsobuje vadnutí třapiny. *P. expansum* produkuje těkavé látky a způsobuje úbytek dusíku v hroznech (HRONSKÝ, 2006).

Rod *Botrytis*

Druh *Botrytis cinerea* vytváří šedé až hnědé mycelium s rozvětvenými hyfami. Při napadení bobulí vytváří tzv. apresorium, modifikovanou strukturu hyfy, která umožní přilnutí mycelia ke slupce bobule. To způsobí povrchovou kontaminaci a průnik do nitra bobule (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Přítomnost volné vody a teplota kolem 18 °C vytváří optimální podmínky pro růst mycelia a pro vyklíčení rezistentních forem, v kterých houba přežívá – konidie, sklerocia (MICHLOVSKÝ, 2014).

Zrání hroznů napadených plísní *Botrytis cinerea*, za příznivých klimatických podmínek, může vést ke zvyšování jejich cukernatosti. Plíseň obalí bobule a poruší slupku, dochází tak k odparu vody a ke zkoncentrování cukrů, nastává také vznik alkoholických cukrů. Napadení hroznů touto plísní dává vínům typickou chuť a vůni, které jsou vyhledávány ve výběrových tokajských vínech, ale i u nás ve výběrech z cibéb (FAR-KAŠ, 1983).

Naopak za nepříznivých podmínek způsobuje *Botrytis cinerea* zhoubnou hnílobu, která nepříznivě ovlivňuje kvalitu hroznů a způsobuje velké ekonomické ztráty (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Rod *Cladosporium*

Cladosporium patří do třídy *Deuteromycetes*, pro kterou je charakteristické přehrádkované mycelium a pouze nepohlavní rozmnožování exosporami (HRONSKÝ, 2006).

Vzhled mycelia je tmavý a matný (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Rhinochlamydia cellaris (*Cladosporium cellare*) je ušlechtilá sklepní plíseň. Vytváří tmavé povlaky na sklepních stěnách. Pro svůj růst vyžaduje 85 % relativní vlhkosti. Její vývoj je velice zdoluhavý, povlaky na stěnách se vytváří za mnoho let až desetiletí, proto se nachází ve starých sklepech. *R. cellaris* má schopnost vázat výpary ze vzduchu (těkavé kyseliny, etanol), čímž přispívá k čistšímu ovzduší ve vinných sklepech (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

3.14.2 Bakterie

Bakterie jsou rozmanité prokaryotické mikroorganismy. I přes to, že jsou bakterie velmi početnou skupinou mikroorganismů, morfologická struktura se u jednotlivých rodů výrazně neliší. Existují tři základní tvary bakterií. Nejčastěji se vyskytuje tvar tyčinkovitý, méně častý je kulovitý tvar. U půdních bakterií řádu *Actinomycetales* se vyskytují tvary vláknité (BABÍKOVÁ, 2010).

U většiny bakterií probíhá rozmnožování dělením, jen několik málo rodů se rozmnožuje pučením (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Nízké hodnoty pH a přítomnost oxidu siřičitého chrání víno před rozvojem bakterií. I přes to za určitých podmínek může dojít ke kontaminaci vína. Největší hrozbu představují bakterie octového kvašení, způsobující octovatění vín, a bakterie mléčného kvašení (BABÍKOVÁ, 2010).

Octové bakterie

Bakterie octového kvašení jsou gramnegativní aerobní krátké tyčinky, patřící do čeledi *Acetobacteraceae*. Negativně působí na kvalitu vína produkcí octové kyseliny, kterou oxidují z etanolu. Při nízké koncentraci alkoholu oxidují vzniklou kyselinu octovou na oxid uhličitý a vodu. Bakterie rodu *Acetobacter* mají přísně aerobní metabolismus, krátké přerušení dodávky kyslíku v přítomnosti etanolu způsobuje jejich usmrcení (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Mechanicky poškozené hrozny a hrozny napadené houbovými chorobami zaručují větší výskyt octových bakterií. Na zdravých hroznech se nejvíce vyskytuje rod *Gluconobacter*, konkrétně *Gluconobacter oxydans*. *Acetobacter aceti* a *Acetobacter pasteurianum* jsou přítomné na poškozených hroznech. V moštu a při počátcích kvašení domínuje *Gluconobacter oxydans*, ke konci kvašení převažuje *Acetobacter aceti* (PAVLOUŠEK, 2010).

Acetobacter aceti dokáže kompletně oxidovat etanol na kyselinu octovou, kterou dále oxiduje až na oxid uhličitý a vodu. *Gluconobacter oxydans* nedokáže využít etanol a oxiduje až kyselinu octovou za vzniku oxidu uhličitého a vody (CARRASCOSA a kol., 2011).

Přítomnost bakterií octového kvašení je ve vinařské technologii zcela nežádoucí. Každý výrobce vína se snaží jejich výskyt omezit. Octové bakterie jsou citlivé na přítomnost oxidu siřičitého, zejména u nahnilých hroznů je nutností použít vyšších dávek oxidu siřičitého již při počátku zpracování hroznů. Kvašení při nižších teplotách také omezuje aktivitu bakterií. Nejdůležitějším faktorem výskytu je však kyslík. Bakterie octového kvašení mají silně aerobní metabolismus, pro omezení jejich růstu je nutné udržovat plné a uzavřené nádoby. Prvotní prevencí proti rozvoji octových bakterií je dodržování čistoty (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Dle MICHLOVSKÉHO (2015) množství 0,6 až 0,8 mg molekulárního SO₂ na litr vína zamezuje výskytu octových bakterií.

Filtrace také značně snižuje počty bakterií ve víně. Octové bakterie mají velikost kolem 0,5 až 1 µm. Spolehlivé odstranění těchto bakterií zaručuje membránová filtrace, u které se velikost pórů pohybuje v rozmezí 0,45 až 1,2 µm (PAVLOUŠEK, 2010).

Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou mikroaerofilní grampozitivní koky, nebo krátké nesporulující tyčinky. Společným znakem této skupiny bakterií je tvorba kyseliny mléčné ze zkvasitelných sacharidů. Tyto bakterie jsou náročné na živiny, nemají schopnost vlastní syntézy růstových faktorů (aminokyseliny, vitaminy skupiny B a další), a proto vyžadují prostředí s dostatečným zastoupením živin. Bakterie mléčného kvašení zahrnují několik druhů z rodů: *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Bifidobacterium* (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Hlavním zástupcem používaným ve vinařství je *Oenococcus oeni*, dalšími pak *Lactobacillus* sp. a *Pediococcus* sp. Při vysokém obsahu kyseliny jablečné je jejich přítomnost žádoucí, neboť se podílejí na přeměně této kyseliny na kyselinu mléčnou (BABÍKOVÁ, 2010).

Dle produktů metabolismu se bakterie mléčného kvašení rozlišují na homofermentativní a heterofermentativní (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Mezi homofermentativní bakterie využívané ve vinařství patří *Pediococcus* sp. a některé druhy rodu *Lactobacillus* sp. (EDER, 2006). Hlavním produktem těchto bakterií je kyselina mléčná, která je metabolizována z cukrů. Dalšími rody, které vytvářejí kyselinu mléčnou jako téměř jediný produkt metabolismu, jsou: *Lactococcus* a *Enterococcus* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Hlavní heterofermentativní bakterií mléčného kvašení používanou v enologii je *Oenococcus oeni*. Rod *Leuconostoc* a některé druhy rodu *Lactobacillus* také spadají do této skupiny bakterií (ŠILHÁNKOVÁ, 2002). Heterofermentativní bakterie vytváří více vedlejší produktů během malolaktické fermentace (kyselina octová, acetaldehyd, etanol). I přes to, že je bakterie *Oenococcus oeni* heterofermentativní, vytváří za určitých podmínek méně vedlejších produktů, než jiné druhy (EDER, 2006).

Rod *Pediococcus*

Rod *Pediococcus* je mikroaerofilní až anaerobní kulovitá bakterie. Buňky vytváří ve dvojicích nebo v tetrádách. Některé druhy jsou obávanými kontaminanty, neboť produkují zvýšené množství diacetylu (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Pediococcus damnosus je acidotolerantní bakterií (GÖRNER, VALÍK, 2004). Bývá producentem diacetylu a kyseliny octové ve vínech, obvykle je obklopen slizovitým obalem. Přítomnost této bakterie může vyvolat vláčkovatění vína (EDER, 2006).

Některé kmeny mají schopnost produkovat nežádoucí biogenní aminy (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Rod *Lactobacillus*

Tento rod patří mezi mikroaerofilní nesporulující grampozitivní tyčinky. Vyskytuje se především v mléce a mléčných výrobcích. Rod *Lactobacillus* zahrnuje homofermentativní (*L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) i heterofermentativní (*L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri*) druhy (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Přítomnost *L. brevis* ve víně způsobuje zvýšenou tvorbu těkavých kyselin (FARKAŠ, 1983).

L. plantarum má schopnost ve vínech rozkládat kyselinu vinnou, vinný kámen a glycerol na kyselinu octovou, kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. Tento nežádoucí jev se nazývá zvrhnutí vína (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1981).

Rod *Leuconostoc*

Rod *Leuconostoc* patří mezi heterofermentativní bakterie mléčného kvašení. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (dříve *Leuconostoc citrovorum*) vytváří velké množství diacetylu, který je ve víně nežádoucí. Je využíván v mlékárenství jako součást máslařské kultury (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Většina těchto kůků vytváří ve víně kromě kyseliny mléčné a oxidu uhličitého i kyselinu octovou a glycerol (FARKAŠ, 1983).

Rod *Oenococcus*

Druhy rodu *Oenococcus* jsou grampozitivní kulovité bakterie (HRONSKÝ, 2006).

K řízené malolaktické fermentaci je používána selektovaná bakterie *Oenococcus oeni*. Největší předností této bakterie je odolnost vůči aciditě. *Oenococcus oeni* je do-

minantní ve vínech s hodnotou pH pod 3,5. Se zvyšující se hodnotou pH (nad 3,5) se vyskytují rody *Pediococcus* a *Lactobacillus*, které mohou vytvářet nežádoucí produkty. Ve víně, s takto zvýšenou hodnotou pH, dochází k rozvoji i dalších mikroorganismů (*Brettanomyces* atd.), čím se víno stává mikrobiálně nestabilním (PAVLOUŠEK, 2010).

3.15 Choroby vín

Dodržování správných technologických postupů a hygieny je zárukou, že vyrobené víno bude zdravé a kvalitní. Při výrobě však mohou vzniknout odchylky, které zhoršují kvalitu vína (FARKAŠ, 2002).

Hlavní příčinou zhoršení kvality je mikrobiální kontaminace vína. Pojem choroby označuje nemoci vín vyvolané mikroorganismy (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

Vlivem činnosti mikroorganismů vznikají ve víně změny, které vedou k jeho znehodnocení. Velký důraz je kladen na zdravotní stav hroznů, které musí být prosté plísní. Během výroby je nutné dodržovat vysokou úroveň hygieny. Vlastními ochrannými faktory vína jsou obsah alkoholu a kyselin. Důležitá je pravidelná a častá kontrola vína, která nám umožňuje odhalit choroby již v jejich počátcích, kdy je můžeme snáze odstranit (HRONSKÝ, 2006).

3.15.1 Sirka

Sirka je velmi známá a poměrně rozšířená choroba, kterou pozná každý vinař. Vyskytuje se zejména u mladých vín na konci fermentace (PÁTEK, 1995).

Choroba se projevuje zápachem po zkažených vejcích, spálené gumě, cibuli, vařeném chřestu a kapustě (STEIDL, 2002).

Ve víně jsou přítomny aromatické látky obsahující síru. Pokud se jejich koncentrace pohybuje v obvyklém množství, má víno typickou a příjemnou vůni i chuť. Pokud však dojde k nadměrné tvorbě těchto látek, nabývá víno netypických tónů, které jsou pro konzumenty nepříjemné (EDER, 2006).

Častým důvodem vzniku bývá nastolení stresového prostředí pro kvasinky a přítomnost reziduí sirných postřikových prostředků. Stresové podmínky vznikají převážně v kvasícím moštu a jsou vyvolány několika faktory: nedostatečnou výživou kvasinek, silně reduktivním prostředím a vysokými dávkami oxidu siřičitého (PAVLOUŠEK, 2010).

Dostatečné zásobené kvasinek dusíkem je důležité pro správný průběh fermentace. Při nedostatku živin (asimilovatelný dusík, vitaminy) jsou kvasinky vystaveny stresu a mohou produkovat senzorycky nežádoucí látky. Stresované kvasinky redukují sirnaté sloučeniny vína až na sirovodík. Sirovodík je hlavní příčinou pachu po zkažených vejcích apod. Tento plyn podléhá dalším reakcím, za vzniku nových senzorycky nepříjemných sloučenin (EDER, 2006).

Poslední výzkumy však ukazují, že zásoba živin nehraje při vzniku sirky tak velkou roli, jak se předpokládalo. Vznik sirky je podporován součtem několika faktorů (hodnota pH, obsah kalů, přítomnost kovů, koncentrace sirných sloučenin a dusíkatých látek)

Příčina vzniku sirky nemusí být vyvolána jen tvorbou metabolitů kvasinek. Ve víně dochází k chemickým reakcím sirných sloučenin, které nejsou způsobené činností mikroorganismů. Z toho důvodu, bývá sirka kromě bakteriálních chorob, řazena také do vad vína, které nejsou způsobeny mikroorganismy (EDER, 2006).

Odstranění sirky z vína je podpořeno jeho vyčištěním, provzdušněním a přidavkem měďnatého přípravku. Zápach po sirovodíku je vázán i na kalové části, proto se víno musí co nejrychleji vyčistit a oddělit od usazených kalů. Víno je vhodné provzdušnit, aby se odvětral sirovodík. Nejúčinnějším léčebným prostředkem je preparát síranu měďnatého (PAVLOUŠEK, 2010). Přídavek síranu měďnatého je povolen do 1 g/hl (EDER, 2006).

3.15.2 Octovatění – těkavá kyselina

Octovatění vín patří k nejnebezpečnějším bakteriálním onemocněním. Vzniklé těkavé kyseliny z vína nelze odstranit (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

Této chorobě podléhají málo alkoholická vína (pod 12 % obj. alkoholu) s nízkým obsahem kyselin. Octovatění vzniká působením octových bakterií, které se rozmnožují na povrchu vín v nedolitých nádobách, kde je přítomen vzdušný kyslík (FARKAŠ, 2002).

Napadené víno má kyselou a štiplavou chuť po octu, je mírně zakalené a na povrchu se může vyskytovat jemná pokožka (STEIDL, 2002).

Octové bakterie vyžadují pro svůj růst přítomnost kyslíku a zvýšenou teplotu prostředí. V takových podmínkách dochází k oxidaci etanolu na kyselinu octovou, která se při úplné oxidaci může dále rozkládat až na oxid uhličitý a vodu. Vlivem působení oc-

tových bakterií dochází i ke vzniku esterů octové kyseliny, které jsou nositelem štiplavého pachu (HRONSKÝ, 2006).

Kromě kyseliny octové, která je hlavní těkavou kyselinou, se tvoří i další těkavé kyseliny – kyselina mravenčí, kyselina propionová, kyselina máselná a další. Menší množství kyseliny octové tvoří i kvasinky *S. cerevisiae*, vytvořené množství je považováno za běžné a neovlivňuje kvalitu vína. Zdravá vína obsahují 0,2 až 0,5 g/l těkavých kyselin (EDER, 2006).

Maximální přípustné hodnoty těkavých kyselin jsou stanoveny vyhláškou EU. Ta povoluje maximální limit těkavých kyselin, přepočtených jako kyselina octová, u bílých a rosé vín na 1,08 g/l a u červených vín na 1,2 g/l (EDER, 2006).

Kyselina octová nemusí být tvořena jen octovými bakteriemi, ale mohou ji produkovat také bakterie mléčného kvašení a divoké kvasinky, např. *Kloeckera* a *Hanseniaspora* (PAVLOUŠEK, 2010).

Jelikož se octovatění vína nedá téměř odstranit, je nutné dodržovat několik zásad, aby nedocházelo k jeho vzniku. Základem je zdravý hrozen bez hnilob, dodržování čistoty a dezinfekce při zpracování hroznů, šíření rmutu a moštu, rychlé zakvašení a plnění nádob (HRONSKÝ, 2006).

Napravení octovatěného vína je téměř nemožné. Tato choroba se dá pouze zmírnit scelováním nemocného vína s vínem zdravým. Před scelováním je nutné nemocné víno sterilně přefiltrovat, aby nedocházelo k dalšímu rozvoji bakterií (EDER, 2006).

3.15.3 Křisovatění

Křisovatění je způsobeno určitými druhy kvasinek, které se rozrůstají na povrchu vína a vytvářejí zde povlak (křís). Tvorba křísu začíná seskupením kvasinek na povrchu vína, kvasinky se zde postupně rozrůstají a vytvářejí silný sametově bílý povlak. Při dalším pomnožení kvasinek povlak zesílí a stává se šedo-bílým (PAVLOUŠEK, 2010).

Křisovatění je vyvoláno působením několika druhů kvasinek: *Pichia* (*P. membranaefaciens*, *P. fermentans*), *Candida* (*C. vini*, *C. zeylanoides*) a *Debaryomyces hansenii* (PAVLOUŠEK, 2010).

Chuť a vůně takto napadaného vína je oxidativní až úplně naoxidovaná, víno ztratí ovocný charakter a svoji odrůdovost. Křísotvorné kvasinky jsou schopny prodýchávat

alkohol za tvorby acetaldehydu a kyseliny octové. Hlavním původcem oxidativních tónů je acetaldehyd (EDER, 2006).

Prevencí vzniku je pravidelné doplňování nádob s vínem, nebo skladování pod inertním plynem (dusík, oxid uhličitý) a kontrola hladiny oxidu siřičitého (STEIDL, 2002).

Při výskytu křísotvorných kvasinek na povrchu vína se tyto kvasinky mechanicky odstraní, víno se přefiltruje a zkontroluje se hladina síry. Veškeré oxidativní tóny z vína nezmizí, chorobu lze zmírnit scelováním se zdravými víny (EDER, 2006).

3.15.4 Vláčkovatění

Vláčkovatění není tak závažnou chorobou, napadené víno se dá napravit (EDER, 2006). Vína s touto chorobou jsou hustá, viskózní, ulpívají na stěnách lahví a sklenic. Chuť vína je nevýrazná, fádni a oxidativní. Napadená vína mají obvykle zvýšený obsah těkavých kyselin (PAVLOUŠEK, 2010).

Tato vada se často vyskytuje u mladých vín s nízkým obsahem alkoholu a kyselin, u kterých nedošlo k úplnému prokvašení a obsahují zbytkový cukr (FARKAŠ, 2002).

Vláčkovatění je způsobeno pomnožením bakterií mléčného kvašení, které vytvářejí slizové látky. *Pediococcus* a *Leuconostoc* jsou hlavními rody způsobující tuto chorobu (HRONSKÝ, 2006).

Pediococcus damnosus, *Leuconostoc mesenteroides* a *Leuconostoc dextranicum* mají schopnost vytvářet z cukrů polysacharidy, které zvyšují viskozitu. Z glukózy, fruktózy, sacharózy a maltózy vytvářejí komplex (sliz) s proteinem a kyselinou ribonukleovou. Tvorbu slizu mohou podpořit také kvasinky a octové bakterie. K slizovatění dochází prvotně u kvasničného kalu na dně nádoby, kde se množí příslušné mikroorganismy. Slizovatění pak pokračuje k povrchu nádoby (EDER, 2006).

Prevencí vzniku je odkalování moštů a vín a používání dostatečného množství oxidu siřičitého (STEIDL, 2002).

Při odstraňování této vady se musí vytvořené vláčky mechanicky rozbít. Víno se prošlehává a prohání pod tlakem přes různé otvory, aby došlo k narušení a rozbití slizu. Víno by se poté mělo zasířit a sterilně přefiltrovat (FARKAŠ, 2002).

3.15.5 Myšina

Myšina se vyskytuje u vín s nízkým obsahem kyselin, které přišly do delšího kontaktu se vzduchem. Ve vínech jsou patrné myší tóny a tóny po myší moči. V chuti se projevuje hořkým a vysušujícím pocitem (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

Myšina není úplně lehce rozeznatelná vada, někteří konzumenti tuto chorobu nezaregistrují a vína jim připadají zdravá. Při nejistotě, zda víno trpí myšinou, se smočí dlaň ve sklenici s vínem, víno se rozetře na dlani a okamžitě se přivoní k ruce. Při rozetření dochází k zesílenému vnímání aroma a tato choroba je snáze rozpoznatelná (EDER, 2006).

Za původce myšiny jsou považovány bakterie mléčného kvašení, především *Lactobacillus* (*L. brevis*, *L. cellobiosus*), a v menší míře pak kvasinky rodu *Brettanomyces* (EDER, 2006).

Ochrana před myšinou spočívá v ostrém odkalení, síření, včasném stáčení z kalů, kvašení při nižších teplotách a filtraci (PÁTEK, 1995).

Slabší myšinový tón se dá odstranit silným zasířením a uložením vína při nižší teplotě, případně mícháním vína se zdravými kvasničnými kaly. Silný myšinový tón se z vína nedá odstranit a tyto vína nejsou vhodná ani k destilaci, jelikož pachut' po myšíně přechází i do destilátu (FARKAŠ, 2002).

3.15.6 Zvrhnutí vína

Zvrhnutí vína je choroba vyskytující se především u červených vín. Zvrhnutí je degradace kyseliny vinné, často je doprovázeno změnou barvy z červené na hnědou a vznikem zákalu (PÁTEK, 1995).

Původcem choroby jsou bakterie mléčného kvašení *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis*, které štěpí kyselinu vinnou na kyselinu octovou a oxid uhličitý. Rozklad kyseliny vinné nastává jen v nepřítomnosti kyseliny jablečné a při vyšším pH prostředí (EDER, 2006).

Běžná péče o víno, tj. síření, stáčení a filtrace, je dostatečnou prevencí vzniku této choroby (KRAUS, KOPEČEK, 2002).

3.15.7 *Brettanomyces* – tón po koňském potu

Příčinou choroby pachu po koňském potu jsou produkty látkové přeměny kvasinek rodu *Brettanomyces*. V malé množství působí vytvořené látky pozitivně na aroma vína (vůně po hřebíčku, kouřová vůně). Ve větší koncentraci vyvolávají nepříjemný živočišný tón, tón koňské stáje, kůže, medicínalní tón a další. Náchylná jsou především červená vína s vyšším obsahem fenolů, která zrála v sudech, ale také šumivá vína (STEIDL, 2002).

Pro vznik této nemoci je důležitý obsah fenolů, který je zvýšen v červených vínech. Vícestupňovou látkovou přeměnou vznikají z fenolů etylfenoly, které jsou ve vyšších koncentracích nositelem živočišného tónu. Významnou roli ve vzniku etylfenolů mají kvasinky *Brettanomyces bruxellensis* (EDER, 2006).

Prvním reakčním krokem je odbourání vinanů kyseliny hydroxyskořicové. To se děje pomocí enzymu přítomného v kvasinkách *S. cerevisiae*. Dochází k uvolnění kyseliny hydroxyskořicové. Kyselina hydroxyskořicová se uvolňuje i z dřevěných sudů. Dalším krokem je enzymatická přeměna kyseliny hydroxyskořicové na vinylfenoly. Tato enzymatická reakce je vyvolána kvasinkami *S. cerevisiae*, ale i bakteriemi mléčného kvašení. Vinylfenoly jsou silné aromatické látky, jsou nositelem kořeněného aroma, které je typické pro Tramín červený. Poslední reakcí je enzymatická redukce vinylfenolů na etylfenoly, která je způsobena pouze aktivitou *Brettanomyces* (EDER, 2006).

Kvasinky *Brettanomyces* mají jednu specifickou vlastnost, dovedou využívat celobiózu, která je pro většinu organismů nevyužitelná. Celobióza je obsažena ve dřevěné struktuře sudů. Díky této vlastnosti mohou kvasinky *Brettanomyces* přežívat i v suchých vínech, kde by jinak neměly zdroj energie (EDER, 2006).

Ani sterilní filtrace nezaručí odstranění těchto kvasinek. *Brettanomyces* mají schopnost vytvořit velmi malé (pod 0,45 μm), nekultivovatelné trvalé formy (VBNC formy – viable but non culturable cells), které nejsou jednoduchými mikrobiologickými metodami prokazatelné, což může vést k domněnce, že tyto kvasinky nejsou již ve víně přítomny. Bezpečná diagnóza spočívá v metodách stanovení DNA. Díky tvorbě velmi malých forem, které nezachytí sterilní filtrace, jsou velmi nebezpečnými kontaminanty (EDER, 2006).

Předpokladem pro potlačení této vady je dodržování sklepní hygieny, pravidelné čištění a dezinfekce zařízení. Kvasinky *Brettanomyces* jsou velice citlivé na přítomnost oxid siřičitého, který je velkým pomocníkem v boji proti této chorobě (STEIDL, 2002).

3.15.8 Pachut' po plísni

Houbovým plísním, především rodu *Penicillium* a *Aspergillus*, se velmi dobře daří na prasklých hroznech, v moštu, na vinném kameni, na zbytcích hroznů a v dřevěných sudech. Při zpracování napadených hroznů a při styku moštu, či vína s kontaminovaným materiálem, (hadice, sudy) dochází ke vzniku ostré zatuchlé plísňové chuti, spojené se změnou barvy (PAVLOUŠEK, 2010).

Prevencí je udržování veškerého zařízení v suchém a čistém stavu. Je potřeba také zajistit dobré větrání sklepa a odstranění vinného kamene z nádob (STEIDL, 2002).

4 MATERIÁL A METODIKA

K rozboru byly zvoleny čtyři druhy vína, dvě bílá a dvě červená. Každé bylo zastoupeno vínem od malovinaře a vínem z většího vinařství. Ročníky byly stejné, jedinou výjimku tvoří vzorek odrůdy Dornfelder. Vína byla testována na přítomnost bakterií mléčného kvašení (BMK), kvasinek a dále byl stanovován celkový počet mikroorganismů (CPM). Na základě výsledků byly srovnány vzorky od malovinařů se vzorky velkovýrobců. Množství mikroorganismů přítomných ve vínech poukazuje především na hygienu během výroby a skladování, technologii výroby, technické vybavení vinaře/vinařství a zdravotní stav vína.

4.1 Použité vzorky

K rozboru byla použita dvě bílá a dvě červená vína, jednalo se především o vína ročníku 2013. Výjimku tvoří vzorek č. 6 Dornfelder, který je ročníku 2012. Každé víno bylo zastoupeno vzorkem od malého vinaře a vzorkem z většího vinařství.

Vzorky malých vinařů pocházejí ze Znojemské vinařské podoblasti. Vína byla poskytnuta Dobrovolným spolkem Moravskokrumlovsko-rakšických vinařů, z řad jejich členů. Členové spolku jsou malí vinaři, pro které je výroba vín koníčkem. Jejich roční produkce se pohybuje od 50 do 800 litrů vyrobeného vína. Žádný z členů nepoužívá při výrobě filtraci, což se projevuje ve výsledcích mikrobiálního rozboru. Členové spolku a výrobci testovaných vín si nepřáli, aby v této práci byla použita jejich jména.

Vzorky větších vinařů pocházejí z Vinařství Krist, Vinařství Líbal, Sdružení vinařů Bonus Eventus a Vinařství Waldberg.

Vzorky od malovinařů byly hodnoceny Degustační komisí v rámci Josefského koštu, který pořádal Dobrovolný spolek Moravskokrumlovsko-rakšických vinařů. Hodnocení vzorků probíhalo 6. 3. 2015 v obci Rakšice. Komise byla složena z místních a okolních vinařů. Na hodnocení dohlížel a celou komisi řídil renomovaný degustátor. Komise byla rozdělena k dvanácti stolům, u každého stolu byl předseda komise a další tři až čtyři členové. Hodnotilo se dle 20 bodového Buxbaumova systému, s tím, že: 19,5 bodů získala vína význačná a unikátní, 19,2 bodů vína vynikající, 18,8 bodů vína výborná, 18,4 bodů vína velmi dobrá, 18 bodů vína příjemně pitelná, 17,6 bodů průměrná

vína, 17,2 bodů vína neharmonická, 16,8 bodů podprůměrná vína a 16 bodů vína podprůměrná nemocná.

4.1.1 Charakteristika jednotlivých vzorků

K vzorkům byla přiřazena čísla od 1 do 8. Bílá vína jsou zastoupena odrůdou Rulandské šedé a odrůdou Veltlínské zelené. Vzorky červených vín jsou Svatovavřínecké a Dornfelder.

Vzorek č. 1, Rulandské šedé 2013, malovinař

Hrozny byly sklizeny v kvalitativním stupni pozdního sběru. Víno pochází z Rakšic, bylo ohodnoceno 18,1 body.

Vzorek č. 2, Rulandské šedé 2013, kabinetní víno, Vinařství Krist

Vinařství Krist sídlí v Miloticích ve Slovácké vinařské podoblasti, kde obhospodaruje 10 ha vinic. Toto vinařství se specializuje na výrobu vysoce kvalitních přívlastkových vín. Vína jsou vyráběna řízeným kvašením, aplikována je i jablečno-mléčná fermentace (ČERNÝ, 2006).

Údaje z etikety: Rulandské šedé 2013, kabinetní víno, suché, 12 % obj. alkoholu, zbytkový cukr 4 g/l, obsah kyselin 6,5 g/l.

Vzorek č. 3, Veltlínské zelené 2013, malovinař

Víno pochází z obce Rybníky, kvalitativní stupeň hroznů, z kterých bylo vyrobeno, není uveden. Na hodnocení získalo 18,6 bodů.

Vzorek č. 4, Veltlínské zelené 2013, jakostní víno, Vinařství Líbal

Toto vinařství je mladou rodinnou firmou, která byla založena roku 2001. Vinařství Líbal sídlí v Horních Dunajovicích ve Znojemské vinařské podoblasti a řadí se mezi malá vinařství. Roční produkce činí kolem 70 000 litrů. Výroba a následné zrání vín probíhá v nerezových tancích a klasických dřevěných sudech (BAKER, 2007).

Veltlínské zelené 2013, jakostní víno suché s obsahem alkoholu 12 % obj., zbytkový cukr 4,7 g/l a obsah kyselin 6,7 g/l.

Vzorek č. 5, Dornfelder 2013, malovinař

Toto červené víno pochází z Moravského Krumlova, bylo ohodnoceno 18,3 body. Víno pochází od stejného výrobce jako vzorek č. 7.

Vzorek č. 6, Dornfelder 2012, pozdní sběr, Sdružení vinařů Bonus Eventus

Bonus Eventus je sdružení vinařů pocházejících z obcí kolem Břeclavi. Sdružení je skupinou pěti rodinných vinařských firem hospodařících ve Slovácké vinařské podoblasti. Značka Bonus Eventus zahrnuje jen ta nejlépe vyrobená vína, o kterých členové rozhodli, že mohou být uváděna na trh pod společnou etiketou Bonus Eventus (BÁRTA, ČERNÝ, 2004).

Vinifikace probíhá u všech členů velmi podobně. Hrozny jsou sbírány ručně, využívá se kvašení čistou kulturou kvasinek, vína poté zrají na jemných kvasničných kalech. U všech červených vín je prováděna jablečno-mléčná fermentace a následné dozrávání v dřevěných sudech (BÁRTA, ČERNÝ, 2004).

Vzorek č. 7, Svatovavřínecké 2013, malovinař

Toto červené víno pochází z Moravského Krumlova, komisi bylo ohodnoceno 18,4 body.

Vzorek č. 8, Svatovavřínecké 2013, jakostní víno, Vinařství Waldberg

Vinařství Waldberg se sídlem ve Vrbovci hospodaří ve Znojenské vinařské podoblasti na vinicích o rozloze kolem 130 ha. Vína jsou vyráběna v sklepním hospodářství, které se nachází ve Chvalovicích. Výrobní kapacita je kolem 170 000 lahví za rok. Vinařství Waldberg využívá řízeného kvašení s možností regulace teploty. Vína zrají v nerezových tancích, nebo v dubových sudech o objemu až 4300 litrů (ČERNÝ, 2006).

Svatovavřínecké 2013 je jakostní červené víno z kolekce Classic, obsah alkoholu je 11,5 % obj.



Obrázek 1: Vzorky vín

4.2 Metodika

V rámci mikrobiologické analýzy byly ve vzorcích stanovovány počty bakterií mléčného kvašení, kvasinek a celkový počet mikroorganismů.

Veškeré laboratorní pomůcky, které přišly do kontaktu se vzorky, byly sterilizovány při teplotě 121 °C 20 minut. Dále proběhla i sterilizace živných půd.

Pro stanovení vybraných skupin mikroorganismů byly použity následující živné půdy.

Plate Count Agar (PCA)

Příprava: Navážka 20,5 g dehydratovaného agarů se rozpustí v 1 l destilované vody. Suspenze se za stálého míchání přivede k varu, v kterém setrvá do úplného rozpuštění agarů. Takto připravená půda se sterilizuje při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Hodnota pH půdy se upraví na $7 \pm 0,2$.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Obsahové složky v 1 litru média:

- Trypton 5 g
- Kvasničný extrakt 2,5 g
- Glukosa 1 g
- Bakteriologický agar 12 g

MRS Agar

Příprava: Navážka 70,3 g dehydratovaného agaru se rozpustí v 1 litru destilované vody. Suspenze se za stálého míchání přivede k varu, ve kterém setrvá do úplného rozpuštění agaru. Takto připravená půda se sterilizuje při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Hodnota pH půdy se upraví na $5,7 \pm 0,2$.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Obsahové složky v 1 litru média:

- Polypepton 10 g
- Tween 80 1,08 g
- Masový extrakt 10 g
- Kvasničný extrakt 5 g
- Hydrogenfosforečnan draselný 2 g
- Glukosa 20 g
- Octan sodný 5 g
- Bakteriologický agar 15 g
- Citran amonný 2 g
- Síran hořečnatý 0,2 g
- Síran manganatý 0,05 g

Chloramphenicol glucose agar

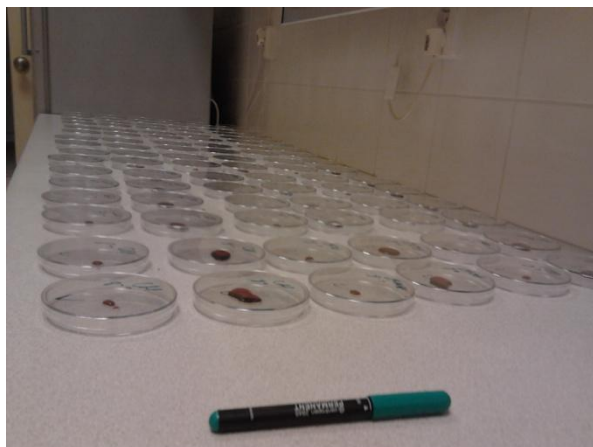
Příprava: Navážka 40,1 g dehydratovaného agaru se rozpustí v 1 l destilované vody. Suspenze se za stálého míchání přivede k varu, ve kterém setrvá do úplného rozpuštění agaru. Takto připravená půda se sterilizuje při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Hodnota pH půdy se upraví na $6,6 \pm 0,2$.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Obsahové složky v 1 litru média:

- Kvasničný extrakt 5 g
- Glukosa 20 g
- Chloramfenikol 0,1 g
- Bakteriologický agar 15 g

Do sterilních jednorázových Petriho misek byl očkovan 1 ml, resp. 0,1 ml, příslušného vzorku vína. Inokulum bylo následně zalito příslušnou živnou půdou a inkubováno při dané teplotě po příslušnou dobu.



Obrázek 2: Vzorky připravené k zalití živnou půdou

Kultivace mikroorganismů probíhala za podmínek, které uvádí JIČÍNSKÁ a HAVLOVÁ (1998). Kvasinky byly kultivovány při teplotě 25 °C po dobu 72 - 120 hodin. Kultivace probíhala na Chloramphenicol glucose agaru. Bakterie mléčného kvašení (BMK) byly kultivovány při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Kultivace probíhala na MRS agaru. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) probíhala kultivace při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin na živné půdě Plate Count Agar (PCA).

Po skončení kultivace byly spočítány narostlé typické kolonie na Petriho miskách. Výsledky byly dosazeny do vzorce, který umožní výpočet KTJ (kolonie tvořící jednotky) v 1 ml vína.

$$N = \frac{\sum c}{V \cdot (n_1 + 0,1n_2) \cdot d}$$

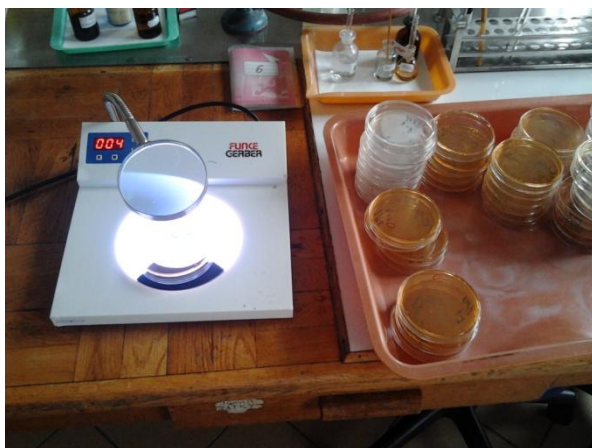
$\sum c$ - součet kolonií na všech plotnách použitých pro výpočet

V - objem očkovaného vzorku v ml

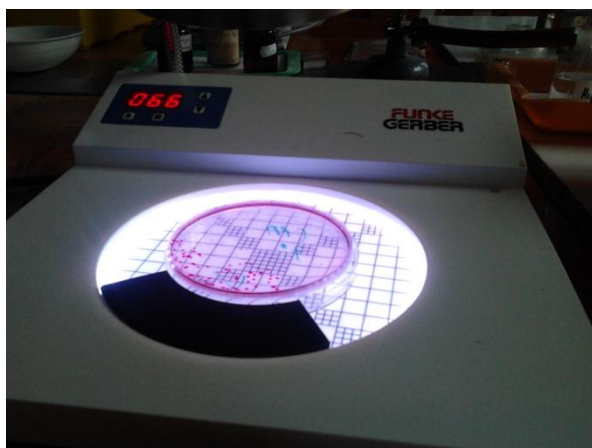
n_1 - počet ploten z prvního ředění použitých pro výpočet

n_2 - počet ploten z druhého ředění použitých pro výpočet

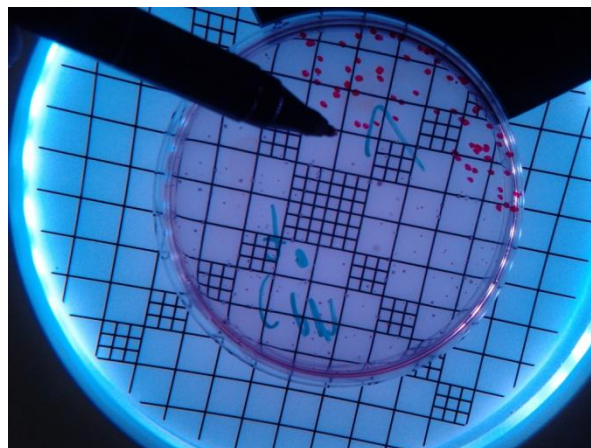
d - faktor prvního pro výpočet použitého ředění



Obrázek 3: Petriho misky s nakultivovanými mikroorganismy



Obrázek 4: Počítání kolonií



Obrázek 5: Počítání kolonií

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

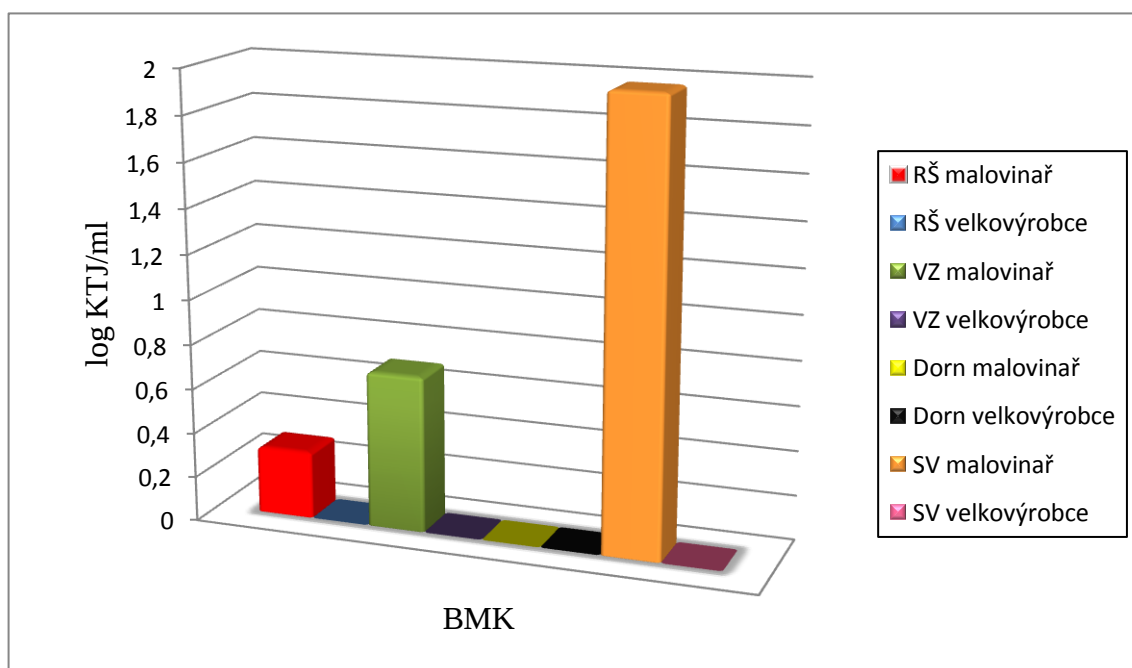
Cílem praktické části bylo stanovit vybrané skupiny mikroorganismů ve vzorcích vín. Ve vínech byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM), bakterie mléčného kvašení (BMK) a kvasinky (Kv). Mikrobiologická analýza byla provedena u 8 vzorků vín čtyř odrůd. Vzorky byly zařazeny do 4 dvojic. Každá dvojice byla tvořena stejnou odrůdou vína, jeden vzorek pocházel od malovinaře a druhý z většího vinařství. Cílem bylo porovnat výsledky rozborů vzorků od malovinařů s velkovýrobci vína. Výsledky mikrobiologické analýzy jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 3: Významné skupiny mikroorganismů ve vzorcích vín v KTJ/ml

	BMK	CPM	Kvasinky
RŠ malovinař	2	1	4
RŠ velkovýrobce	0	0	0
VZ malovinař	5	4	10
VZ velkovýrobce	0	0	1
Dorn malovinař	0	0	1
Dorn velkovýrobce	0	$3,5 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$
SV malovinař	95	$2,9 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$
SV velkovýrobce	1	0	1

Vysvětlivky: RŠ – Rulandské šedé, VZ – Veltlínské zelené, Dorn – Dornfelder, SV – Svatovavřínecké, BMK – bakterie mléčného kvašení, CPM – celkový počet mikroorganismů

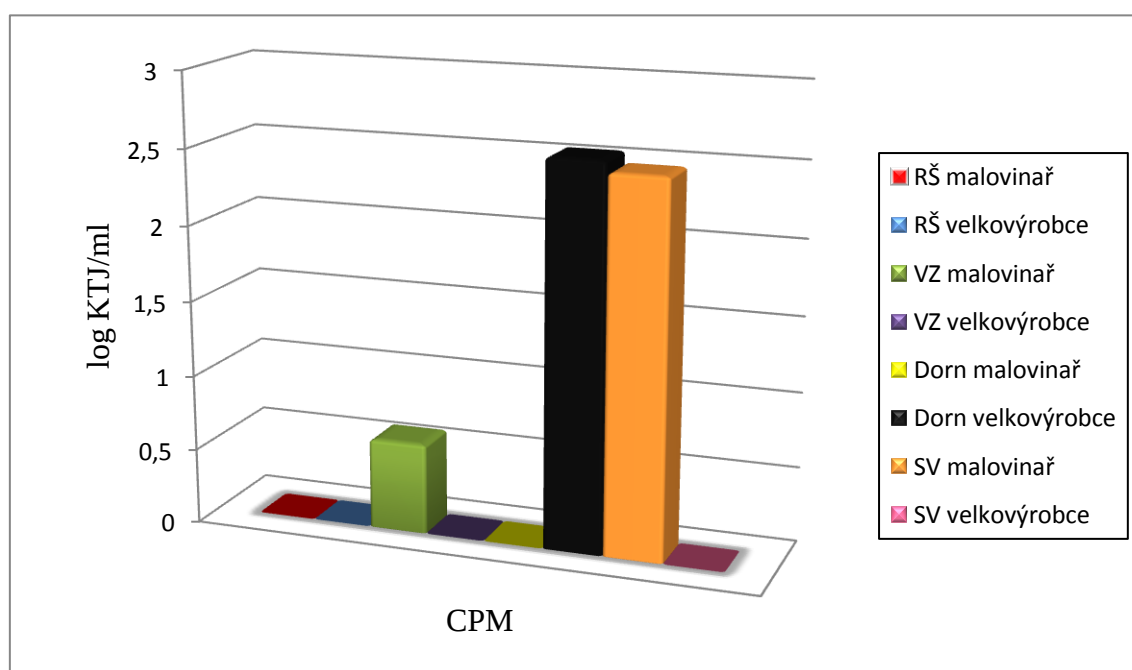
Výsledky analýzy poukazují na hygienu během výroby a skladování, na hygienu zařízení, na zdravotní stav suroviny, na technické vybavení, na zdravotní stav vína a na zvolenou technologii výroby. Dá se předpokládat, že více mikroorganismů bude detekováno u vín od malovinařů, kteří nejsou tak důkladní v sanitaci a nemají takové technické možnosti, jako velkovýrobci. Vína od malovinařů nejsou filtrována, což přispívá ke zvýšenému počtu daných mikroorganismů. Zastoupení detekovaných mikroorganismů a srovnání vín od malovinařů s víny velkovýrobce jsou uvedeny v následujících grafech (obrázek 6, 7, 8, 9).



Obrázek 6: Množství detekovaných BMK ve vzorcích vín

Výsledky analýzy znázorněné na obrázku 6 potvrzují přítomnost bakterií mléčného kvašení pouze ve třech vzorcích. Všechny tři vzorky pochází od malovinařů. Ve vzorku červeného vína (SV malovinař) jsou bakterie mléčného kvašení přítomny ve zvýšeném množství. To poukazuje na proběhlé jablečno-mléčné kvašení, které je zřejmé i z ochutnání vína. Bakterie mléčného kvašení způsobují jablečno-mléčnou fermentaci, při které je rozkládána kyselina jablečná na kyselinu mléčnou a oxid uhličitý (STEIDL, 2002). Bakterie mléčného kvašení jsou ve vzorku Svatovavřínecké malovinař stále aktivní, po ochutnání jsou patrné mléčné tóny a jemné perlení, které je způsobeno přítomností oxidu uhličitého. Ve vzorku je tedy pravděpodobně rozkládána kyselina jablečná za vzniku kyseliny mléčné a oxidu uhličitého, jak uvádí STEIDL (2002). Ve dvou vzorcích bílých vín od malovinařů byl také zjištěn výskyt BMK, jedná se o vzorky Rulandské šedé a Veltlínské zelené. Počet BMK v těchto vzorcích je malý a zatím nijak neovlivnil kvalitu vín. Časem by však mohlo dojít k pomnožení bakterií mléčného kvašení, které by mohly negativně změnit aroma vín. U ostatních vzorků bílých vín nebyly bakterie mléčného kvašení detekovány, to poukazuje na dobrou hygienu a správně provedené technologické postupy během výroby. U červených vín lze předpokládat přítomnost BMK ve všech vzorcích, neboť je u nich často a záměrně provádě-

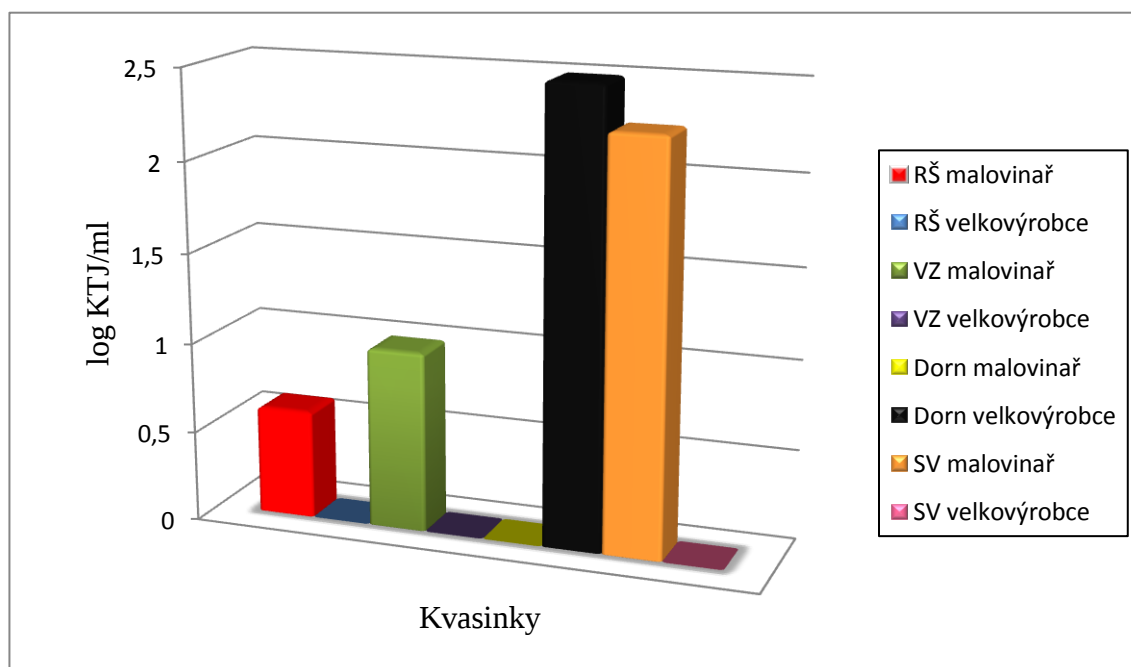
no jablečno-mléčné kvašení pomocí preparátů s BMK a nebo samovolnou činností těchto bakterií, jak uvádí STEIDL a RENNER (2003). Nepřítomnost bakterií mléčného kvašení ve třech vzorcích červených vín může poukazovat na to, že ve vínech nebyla provedena jablečno-mléčná fermentace, nebo že po jejím provedení, byly BMK precizně odstraněny filtrací, což se nepředpokládá u vzorku Dorn malovinař, jehož výrobce filtraci nepoužívá. U vzorku Dorn velkovýrobce je deklarována jablečno-mléčná fermentace u všech červených vín, které firma vyrábí. Pokud tomu tak opravdu je, byly BMK odstraněny filtrací.



Obrázek 7: CPM detekovaný ve vzorcích vín

Z výsledků uvedených v tabulce 3 a obrázku 7 je patrný zvýšený celkový počet mikroorganismů především v červených vínech. Opět byla prokázána zvýšená přítomnost mikroorganismů u vzorků od malovinařů. CPM poukazuje především na hygienu sklepního hospodářství a na zdravotní stav suroviny. Vzorek SV malovinař znovu prokázal zvýšené množství mikroorganismů. Tento vzorek vykazuje senzorické odchylky od ostatních vzorků. Jeho kvalita je razantně snížena kontaminací mikroorganismy, které byly prokázány ve všech testech. Je zajímavé, že vzorek SV malovinař pochází od stejného výrobce jako vzorek Dorn malovinař, ve kterém nebyla detekována přítomnost žádné ze stanovovaných skupin mikroorganismů. Oba vzorky byly vyrobeny

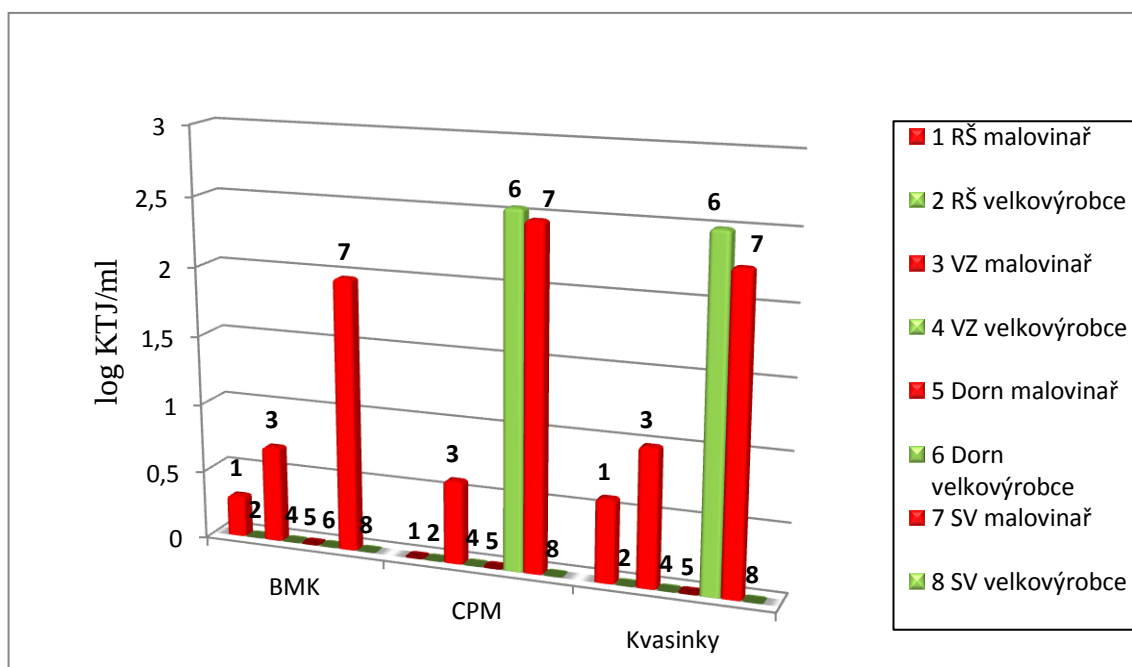
a skladovány ve stejných prostorech a za stejných podmínek a přišly do kontaktu se stejným zařízením (lis, hadičky apod.). Z tohoto důvodu, zvýšené množství mikroorganismů ve vzorku SV malovinař poukazuje především na nedbalou péči o toto víno, špatný zdravotní stav hroznů, kontaminovanou nádobu, ve které bylo víno skladováno nebo na kontaminaci lahví, do kterých bylo víno lahvováno. Ve vzorku VZ malovinař byla také prokázána přítomnost mikroorganismů (tak jak v testu na BMK), toto množství je zanedbatelné a vzhledem k nepoužívání filtrace u tohoto vinaře je přítomnost CPM v menším množství zcela běžná a sensoricky nesnižuje kvalitu vína. Vzorrek Dorn velkovýrobce vykazuje zvýšené hodnoty CPM. Při degustaci tohoto vzorku byla patrná přítomnost menšího množství těkavých látek (kyselina octová, aceton a další). Jak uvádí EDER (2006), těkavé látky jsou produkovány především octovými bakteriemi, přítomnost těchto bakterií by vysvětlovala i zvýšený CPM.



Obrázek 8: Množství detekovaných kvasinek ve vzorcích vín

Přítomnost kvasinek byla prokázána především u vzorků od malovinařů. Kvasinky byly detekovány ve dvou bílých a dvou červených vínech, z toho jedno víno pochází od velkovýrobce. U vzorků RŠ malovinař a VZ malovinař je toto zanedbatelné množství kvasinek očekáváno vzhledem k nepoužívání filtrace během výroby. I přes to hrozí riziko refermentace vín. Vzorky RŠ malovinař, VZ malovinař, Dorn velkovýrobce

jsou suchá vína, kvasinky v nich nemají větší dostatek živin a tak se nemůže projevit jejich aktivita. Kvasinky v těchto vzorcích pouze přežívají a čekají, až přijdou vhodné podmínky pro zvýšení jejich aktivity, což je velmi nepravděpodobné. U vzorku SV malvinař byl zjištěn zvýšený počet kvasinek, obdobně jako tomu bylo i u ostatních skupin mikroorganismů. Ke zvýšení oxidu uhličitého v tomto víně přispívají kromě BMK i přítomné kvasinky, které fermentují zbytkový cukr (ten je i senzoricky prokazatelný) ve víně. Z hlediska přítomnosti vyšší hladiny alkoholu, by se mohlo jednat o přítomnost kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae* společně s rodem *Saccharomyces bayanus*, který jak uvádí FURDÍKOVÁ a MALÍK (2007) je odolnější vůči vyšší hladině alkoholu a ke konci fermentace přebírá aktivitu od kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Ve vzorku Dorn velkovýrobce byl také prokázán zvýšený počet kvasinek, společně se zvýšeným CPM to může ukazovat na chyby při filtraci. Spíše se však může jednat o sekundární kontaminaci, například při lahvování.



Obrázek 9: Zastoupení mikroorganismů ve vzorcích malvinařů a velkovýrobců

Tři ze čtyř vín vyrobených malvinaři vykazovaly přítomnost určité skupiny mikroorganismů. Jediným vzorkem od malvinaře, ve kterém nebyla prokázána přítomnost stanovovaných mikroorganismů, byl Dornfelder, červené víno od vinaře z Moravského Krumlova. Pouze v jednom vzorku vína velkovýrobce byly detekovány mikroorga-

nismy. Jedná se o vzorek č. 6 Dornfelder od firmy Bonus Eventus, v tomto vzorku byl identifikován největší CPM a největší počet kvasinek ze všech zkoumaných vzorků.

6 ZÁVĚR

Mikroorganismy jsou nedílnou součástí celého procesu výroby vína. Zastoupení a přítomnost jednotlivých mikroorganismů na vinici ovlivňuje i mikroflóru moštu. Z vinice přichází hlavně mikroorganismy, které nejsou při výrobě žádoucí. Během zpracování hroznů se pak počet kontaminujících mikroorganismů zvyšuje. Tyto mikroorganismy mohou produkovat nežádoucí látky, a proto je nutné jejich aktivitu potlačit, k tomu je využíván oxid siřičitý. Zakvašení moštu čistou kulturou kvasinek zaručuje bezproblémovou fermentaci a potlačuje růst nežádoucích mikroorganismů, vede však k celkové uniformitě vín. Během školení vína může dojít ke kontaminaci a k rozvoji nežádoucích mikroorganismů, které by mohly způsobit choroby. Prvotní prevencí proti kontaminaci je dodržování hygieny. Zvláštní pozornost je nutné věnovat při závěrečné filtraci na konci školení. Před lahvováním musí nastat sanitace filtračního zařízení, která zaručí, že víno nebude kontaminováno mikroorganismy. Po sterilní filtraci je víno lahvováno do sterilních lahví a může zde být uchováno několik let.

Praktická část je tvořena mikrobiologickým rozborem vzorků vín a porovnává vína pocházející od malovinařů a velkovýrobců. Ve vzorcích byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: CPM, BMK a kvasinky.

Vzorky malovinařů pocházely z podoblasti Znojenské a byly poskytnuty Dobrovolným spolkem Moravskokrumlovsko-rakšických vinařů. Tito vinaři nepoužívají při výrobě filtraci, což se promítlo i ve výsledcích. Vynechání filtrace z procesu výroby má pozitivní vliv na sensorický profil vína, to je největší výhodou vín vyráběných v malovýrobě. Filtrace umožňuje odstranit buňky mikroorganismů, které by mohly způsobit choroby vína. Vynechání filtrace zvyšuje riziko pomnožení mikroorganismů přítomných ve víně. Z důvodu vynechání filtrace by malovinaři měli klást větší důraz na čistotu prostředí, která je prevencí proti kontaminaci mikroorganismy. K omezení aktivity mikroorganismů je ve vinařství používán oxid siřičitý, který má antimikrobiální vlastnosti. V poslední době je trendem výroba vín s nízkou hladinou oxidu siřičitého (alergen). To je možné pouze se zdravou surovinou a především v podmínkách větších vinařství, které dbají na sanitaci a hygienu prostředí a využívají různých typů filtrů. Menší výrobci vína ve většině případů nekladou takový důraz na sanitaci a hygienu. Z tohoto důvodu musejí používat vyšších dávek oxidu siřičitého, aby zabránili rozvoji nežádoucích mikroorganismů.

Výsledky rozborů prokazují vyšší počty mikroorganismů ve vínech malovinařů. Výjimkou byl vzorek **Dornfelder od malovinaře**, ve kterém nebyl prokázán výskyt mikroorganismů. To ukazuje na precizně odvedenou práci během zpracování hroznů a během školení vína. Nulová přítomnost mikroorganismů i přes nepoužívání filtrace je velmi nepravděpodobná. Výrobce tohoto vína odvedl dobrou práci především s použitím oxidu siřičitého, který byl dodáván v čas jeho potřeby a v dostatečné a přitom správné míře, to omezilo výskyt mikroorganismů. Dále lze předpokládat vysokou úroveň hygieny prostředí, pomůcek a nádob, se kterými víno přišlo do styku. Ve vzorku je senzorycky rozpoznatelný vyšší obsah alkoholu, který je pro červená vína typický. Vyšší obsah alkoholu pomáhá k údržnosti vína a omezuje výskyt a aktivitu mikroorganismů. Výrobce vzorku Dorn malovinař dokázal, že i v podmínkách malého vinaře lze vyrobit víno, které je schopno konfrontace s kvalitními víny od velkovýrobců, mnohé z nich by určitě předčilo.

Naproti tomu vzorek **Svatovavřínecké malovinař** je jeho opakem, přičemž víno pocházelo od stejného výrobce. Ve všech testech byl ve vzorku SV malovinař prokázán výskyt mikroorganismů, který značně snižuje jeho kvalitu. Vzhledem k tomu, že výroba probíhala ve stejných podmínkách jako Dorn malovinař, je velmi pravděpodobné, že ke kontaminaci mohlo dojít těmito vlivy: špatný zdravotní stav hroznů, nedostatečná péče o víno, skladování v kontaminovaných nádobách, lahvování do kontaminovaných lahví.

Dalším vzorkem, ve kterém bylo prokázáno zvýšené množství mikroorganismů, byl **Dornfelder od velkovýrobce**. V tomto vzorku byl zvýšený CPM a zvýšený počet kvasinek. Bakterie mléčného kvašení nebyly prokázány i přesto, že výrobce deklaruje použití jablečno-mléčné fermentace. Zvýšené hodnoty CPM a kvasinek naznačují, že u tohoto vína zřejmě neproběhla filtrace, nebo bylo víno lahvováno do kontaminovaných lahví. Nepřítomnost BMK naznačuje, že nebyla provedena jablečno-mléčná fermentace. Po ochutnání tohoto vína byla rozpoznatelná přítomnost těkavých kyselin. Těkavé kyseliny byly přítomny pouze v malém a téměř zanedbatelném množství, které by běžný konzument vína nejspíše nerozeznal. Jejich přítomnost tedy výrazně neovlivňovala kvalitu vína. Obsah těkavých kyselin může ukazovat na přítomnost octových bakterií, které by přispěly i ke zvýšenému celkovému počtu mikroorganismů.

Ve vzorku **Veltlínské zelené malovinař** bylo prokázáno malé množství přítomných mikroorganismů ve všech provedených testech. Prokázané množství je velmi malé a

bylo očekáváno, nijak nesnižovalo kvalitu tohoto vína, které je také schopno konfrontace s víny od velkovýrobců.

Ve vzorku **Rulandské šedé malovinař** bylo identifikováno zanedbatelné množství kvasinek a bakterií mléčného kvašení, to poukazuje na dobře odvedenou práci vinaře a na dodržování hygieny během výroby a skladování.

U vzorků **Rulandské šedé velkovýrobce**, **Veltlínské zelené velkovýrobce**, **Svatovavřínecké velkovýrobce** a **Dornfelder malovinař** nebyla prokázána přítomnost stanovených mikroorganismů. U velkovýrobců je tato nepřítomnost způsobena správně provedenou sterilní filtrací a dodržováním hygieny prostředí v celém výrobním podniku. Poukazuje to na preciznost vinařství, pro které je sanitace a dodržování hygieny velmi důležité. Sanitace a hygiena jsou prevencí vzniku chorob vín. Pokud by nastala kontaminace vín mikroorganismy a došlo by ke vzniku chorob, muselo by vinařství danou chorobu odstranit, v horším případě šarži vína zlikvidovat, to by znamenalo velké ekonomické ztráty a možnou ztrátu zákazníků, proto je dodržování hygieny tak důležité.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ACKERMANN P., 2003: *Vinařský slovník*. Praha: Radix, 335 s. ISBN 80-86031-34-9.
- BÁBÍKOVÁ P., 2010: *Vinařská mikrobiologie: pracovní sešit*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 58 s. ISBN 978-80-7375-465-5.
- BAKER H., 2007: *Kapesní průvodce po vinařství a vínech ČR 2007*. Beroun: Newsletter, 384 s. ISBN 80-7350-071-x.
- BALÍK J., 2006: *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 96 s. ISBN 80-7157-933-5.
- BAROŇ M., 2013: Malolaktická fermentace. Databáze online [cit. 2015-03-20]. Dostupné na: <http://www.vinicavino.sk/sk/technologie/malolakticka-fermentace/>
- BÁRTA L., ČERNÝ B., 2004: *50 dnů s vinaři: aktuální obrazový průvodce českými a moravskými vinařskými oblastmi, 50 předními vinařstvími a jejich nejlepšími víny*. Praha: Geronimo Collection, 327 s. ISBN 80-239-2190-8.
- CARRASCOSA S. A., MUNOZ R., GONZALEZ G. R., 2011: *Molecular wine microbiology*. Amsterdam: Academic Press, 363 s. ISBN 978-0-12-375021-1.
- ČERNÝ B., 2006: *Malá encyklopedie českých a moravských vín: hodnoceno více než 800 vín*. Praha: Geronimo Collection, 208 s. ISBN 80-239-7522-6.
- DEAK T., 2008: *Handbook of food spoilage yeasts*. 2. vyd. Boca Raton: FL:CRC Press, 325 s. ISBN 978-1-4200-4493-5.
- DELFINI C., FORMICA J. V., 2001: *Wine microbiology: science and technology*. New York: Marcel Dekker, 490 s. ISBN 0-8247-0590-4.
- DOHNAL T., KRAUS V., 1972: *Pěstování révy a využití hroznů*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 252 s.
- DOHNAL T., KRAUS V., PÁTEK J., 1975: *Moderní vinař*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 476 s.

EDER R., 2006: *Vady vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 263 s. ISBN 80-903201-6-3.

FARKAŠ J., 2002: *Všetko o víne: tajemství kvality vína*. 2. vyd. Martin: Neografia, 171 s. ISBN 80-88892-47-3.

FARKAŠ J., 1983: *Biotechnológia vína*. 2. vyd. Bratislava: Alfa, 978 s.

FELDKAMP H., 2003: *Domácí výroba vína: vlastní víno z hroznů, ovoce, bylinek a květů*. Praha: Víkend, 125 s. ISBN 80-7222-267-8.

FLEET G., QUEROL A., 2006: *Yeasts in food and beverages*. Berlin: Springer, 453 s. ISBN 3-540-28388-9.

FURDÍKOVÁ K., MALÍK F., 2007: Kvasinky vo vinárstve. *Vinařský obzor*, 100 (10): 488–489. ISSN: 1212-7884.

GÖRNER F., VALÍK L., 2004: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami*. Bratislava: Malé centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

HRONSKÝ Š., 2006: *Vinárstvo*. Nitra: Vydavateľstvo SPU, 128 s. ISBN 80-8069-774-4.

HUBÁČEK V., KRAUS V., 1982: *Hrozny a víno z vinice i zahrady*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 300 s.

JIČÍNSKÁ E., HAVLOVÁ J., 1998: *Mikrobiologická kontrola potravin a potravinářských surovin v legislativě EU*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 76 s. ISBN 80-85120-95-x.

KRAUS V., HUBÁČEK V., ACKERMANN P., 2010: *Rukověť vinaře*. 3. vyd. Praha: Brázda, 267 s. ISBN 978-80-209-0378-5.

KRAUS V., KOPEČEK J., 2002: *Setkání s vínem*. Praha: Radix, 141 s. ISBN 80-86031-36-5.

KRAUS V., KRAUS V. ml., 2003: *Pěstujeme révu vinnou*. Praha: Grada Publishing a.s., 96 s. ISBN 80-247-0562-1.

KUČEROVÁ J., PELIKÁN M., HŘIVNA L., 2007: *Zpracování a zbožiznalství rostlinných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 122 s. ISBN 978-80-7375-088-6.

KUTTELVAŠER Z., 2003: *Abeceda vína*. Praha: Radix, 279 s. ISBN 80-86031-43-8.

MICHLOVSKÝ M., 2015: Lahvování vína – nastavení oxidu siřičitého a oxidu uhličitého. *Vinařský obzor*, 108 (1): 43–44. ISSN: 1212-7884.

MICHLOVSKÝ M., 2014: *Bobule*. Rakvice: Vinselekt Michlovský a.s., 229 s. ISBN 978-80-905319-3-2.

MICHLOVSKÝ M., 2012: *Oxid siřičitý v enologii*. Rakvice: Vinselekt Michlovský a.s., 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1.

NOVOTNÝ K., 2014: Redukce celkových kyselin ve víně využitelná i v malovinařství. *Vinařský obzor*, 107 (9): 463–464. ISSN: 1212-7884.

PÁTEK J., 1995: *Nová vinařská abeceda*. Brno: Blok, 183 s. ISBN 80-7029-095-1.

PÁTEK J., 2000: *Zrození vína: všechno o zpracování hroznů, výrobě vína a jeho zrání*. 2. vyd. Brno: Jota, 293 s. ISBN 80-7217-101-1.

PAVLOUŠEK P., 2014: PIWI odrůdy ve středoevropském regionu. *Vinařský obzor*, 107 (7/8): 350–352. ISSN: 1212-7884.

PAVLOUŠEK P., 2011: *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada Publishing a.s., 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.

PAVLOUŠEK P., 2010: *Výroba vína u malovinařů*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.

PAVLOUŠEK P., 2007: *Encyklopedie révy vinné*. Brno: Computer Press, 315 s. ISBN 978-80-251-1704-0.

- PAVLOUŠEK P., 1999: *Vinohradnictví: odrůdy révy vinné*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 122 s. ISBN 80-7157-415-5.
- PRIEWE J., 2003: *Nová škola vína*. Praha: Euromedia Group, 256 s. ISBN 80-242-1047-9.
- PTÁČEK P., 2014a: Abeceda začínajícího vinaře: šíření a školení. *Vinařský obzor*, 107 (1): 10–11. ISSN: 1212-7884.
- PTÁČEK P., 2014b: Abeceda začínajícího vinaře: finalizace vín. *Vinařský obzor*, 107 (2): 64–65. ISSN: 1212-7884.
- PTÁČEK P., 2014c: Lahvování. *Vinařský obzor*, 107 (3): 138–139. ISSN: 1212-7884.
- PTÁČEK P., 2014d: Odbourávání kyselin. *Vinařský obzor*, 107 (11): 578. ISSN: 1212-7884.
- RADA T., TKÁČÍKOVÁ J., KUNC O., 2012: *Zákon o vinohradnictví a vinařství*. Praha: Wolters Kluwer ČR, 212s. ISBN 978-80-7357-705-6.
- SEDLO J., 2014: Kde se tady vzaly rezistentní (interspecifické, PIWI) odrůdy? *Vinařský obzor*, 107 (7/8): 353–355. ISSN: 1212-7884.
- SCHNEIDER V., 2014: Změny aroma bílých vín v důsledku biologického odbourávání kyselin. *Vinařský obzor*, 107 (11): 579–581. ISSN: 1212-7884.
- SOCHOR J., 2013a: Jablečno-mléčná fermentace (malolaktická fermentace MLF). Databáze online [cit. 2015-03-20].
Dostupné na: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1189
- SOCHOR J., 2013b: Způsoby kvašení. Databáze online [cit. 2015-03-12]. Dostupné na: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1227
- STÁVEK J., 2013: *Rosé: veselý i vážný vícebarevný svět vína*. Praha: Radix, 118 s. ISBN 978-80-87573-05-1.
- STEIDL R., 2002: *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 307 s. ISBN 80-903201-0-4.

STEIDL R., RENNER W., 2004: *Problémy kvašení vín*. Valtice: Národní salon vín, 74 s. ISBN 80-903201-3-9.

STEIDL R., RENNER W., 2003: *Moderní příprava červeného vína*. Valtice: Národní salon vín, 72 s. ISBN 80-903201-2-0.

SZPI, 2014: Organizační a jednací řád Komise Státní zemědělské a potravinářské inspekce pro hodnocení a zařizování vína. Databáze online [cit. 2015-02-21]. Dostupné na: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006660&docType=ART&nid=>

ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.

ŠVEJCAR V., MINÁRIK E., 1981: *Vinařství, Mikrobiologie hroznů a vína*. 2. vyd. Brno: VŠZ, 99 s.

ÚKZÚZ, 2014: Meziroční změny ve výměře a skladbě vinic v České republice. Databáze online [cit. 2014-10-24]. Dostupné na: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/trvale-kultury/mezirocni-zmeny-ve-vymere-a-skladbe.html>

VIDLÁŘ M., 2014: Jak dosáhnout ideální malolaktické fermentace. *Vinařský obzor*, 107 (11): 576–577. ISSN: 1212-7884.

VRÁNOVÁ D., 2015: Výzkum v izolaci autochtonní kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. *Vinařský obzor*, 108 (1): 30–32. ISSN: 1212-7884.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vzorky vín

Obrázek 2: Vzorky připravené k zalití živnou půdou

Obrázek 3: Petriho misky s nakultivovanými mikroorganismy

Obrázek 4: Počítání kolonií

Obrázek 5: Počítání kolonií

Obrázek 6: Množství detekovaných BMK ve vzorcích vín

Obrázek 7: CPM detekovaný ve vzorcích vín

Obrázek 8: Množství detekovaných kvasinek ve vzorcích vín

Obrázek 9: Zastoupení mikroorganismů ve vzorcích malovinařů a velkovýrobců