

**Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici**

Kvasinky *Brettanomyces bruxellensis* v technologii vín
Bakalářská práce

Lednice 2016

Hana Cháberová

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Hana Cháberová**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Vinohradnictví a vinařství
Název tématu: **Kvasinky *Brettanomyces bruxelensis* v technologii vín**
Rozsah práce: 35-45

Zásady pro vypracování:

1. Prostudovat dostupnou literaturu k danému tématu. Zmapování světových oblastí potýkajících se ve větší míře s touto problematikou.
2. Zmapování světových oblastí potýkajících se ve větší míře s touto problematikou. Rozebrat možnosti identifikace zodpovědných mikroorganismů, možnosti prevence vzniku animálních tónů.
3. Vyvození vlastních komentářů, doporučení pro praxi.

Seznam odborné literatury:

1. EDER, R. a kol. *Vody vína*. 1. vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. 263 s. ISBN 80-903201-6-3.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J.M. *Handbook of enology : The microbiology of wine and vinifications*, volume 1. Chichester, West Sussex, England, 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.
3. BAROŇ, M. – ČERNOHORSKÁ, D. *Animální tony v červených. Vinařský obzor*. 2013. sv. 4, s. 68–70. ISSN 1212-7884.
4. STEIDL, R. – RENNER, W. *Moderní příprava červeného vína*. 1. vyd. Valtice: Národní salon vín, 2003. 72 s. ISBN 80-903201-2-0.


Datum zadání bakalářské práce:

prosinec 2014

Termín odevzdání bakalářské práce:

květen 2016


Hana Cháberová
Autorka práce


doc. Ing. Mojmir Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu

L. S.




doc. Ing. Mojmir Baroň, Ph.D.
Vedoucí práce


doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářkou práci na téma „Kvasinky *Brettanomyces bruxelensis* v technologii vín“ vypracovala 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 vědoma, 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 Lednici dne

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi pomohli při zpracování mé bakalářské práce. Děkuji vedoucímu práce, doc. Ing. Mojžíru Baroňovi, PhD., za podporu, ochotu a inspiraci.

Děkuji všem odborníkům a vinařům za poskytnutí informací.

Na závěr chci poděkovat celé své rodině za podporu v průběhu celé doby studia.

OBSAH

| | | |
|-------|---------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | ÚVOD | 8 |
| 2 | CÍL PRÁCE..... | 10 |
| 3 | LITERÁRNÍ PŘEHLED | 11 |
| 3.1.1 | Kvasinky <i>Brettanomyces bruxelensis</i> | 11 |
| 3.1.2 | Historie kvasinek rodu <i>Brettanomyces</i> | 12 |
| 3.1.3 | Charakteristika kvasinek | 12 |
| 3.2 | Přehled technologie výroby vín | 14 |
| 3.2.1 | Výroba bílého vína | 14 |
| 3.2.2 | Výroba červeného vína..... | 15 |
| 3.2.3 | Uskladnění červeného vína v barrikových sudech | 16 |
| 3.2.4 | Infikace vína | 17 |
| 3.2.5 | Enologické podmínky | 17 |
| 3.2.6 | Proces scelování vína | 18 |
| 3.2.7 | Vhodné podmínky pro rozvoj <i>Brettanomyces</i> | 18 |
| 3.2.8 | Kde se tvoří vůně, chuť a barva vína..... | 19 |
| 3.3 | Těkavé fenoly | 21 |
| 3.3.1 | Tvorba těkavých fenolů..... | 21 |
| 3.3.2 | Hydroxyskořicové kyseliny..... | 22 |
| 3.3.3 | Vinylfenoly..... | 23 |
| 3.3.4 | Etylfenoly | 23 |
| 3.3.5 | Využití enzymů | 23 |
| 3.3.6 | Lahvování vína | 25 |
| 3.3.7 | Možnosti minimalizace nákazy kvasinkami <i>Brettanomyces</i> :..... | 26 |
| 3.4 | Látky produkované kvasinkami <i>Brettanomyces</i> | 27 |
| 3.4.1 | Kyselina octová – octovatění vína | 27 |
| 3.4.2 | Myšina | 28 |
| 3.4.3 | Těkavé mastné kyseliny | 29 |
| 3.5 | Metody Identifikace kvasinek <i>Brettanomyces</i> | 29 |
| 3.6 | Odstranění vad, chorob a jejich prevence..... | 30 |
| 3.6.1 | Technologické metody | 30 |
| 3.6.2 | Fyzikální metody..... | 31 |
| 3.6.3 | Chemické metody..... | 32 |
| 3.7 | Hodnocení vín..... | 34 |
| 3.7.1 | Hodnocení živočišnosti u napadených vín | 34 |
| 3.7.2 | Znaky pro vyřazení vína..... | 34 |
| 3.7.3 | Znaky pro sestupnění vína..... | 36 |

| | | |
|-------|---------------------------------------------|----|
| 3.7.4 | Vliv fenolů na sensorické aroma vín..... | 36 |
| 3.7.5 | Oblasti s <i>Brett</i> charakterem vín..... | 37 |
| 4 | DISKUSE..... | 38 |
| 5 | ZÁVĚR..... | 39 |
| 6 | SOUHRN | 40 |
| 7 | RESUME..... | 41 |
| 8 | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 42 |
| 9 | SEZNAM OBRÁZKŮ | 47 |
| 10 | SEZNAM TABULEK..... | 48 |

1 ÚVOD

Víno, jako každý živý organismu, se rodí, vyvíjí a stárne. Cesta k dobrému a kvalitnímu moku je zdlouhavá. Zkušené vinaři říkají, že kvalita se rodí již na vinici, protože ze zdravých a správně zralých hroznů, které se sklídí a zpracují do podoby moštů či rmutů a nechají ho vykvasit, vyrobí kvalitní víno.

Může se stát, že úroda nebyla kvalitní, počasí nepřálo a hrozny se jeví nezdravé, při školení a zpracování se objeví nedostatky a víno nemá takovou kvalitu, jakou by mělo mít a kterou rozpoznáme senzoričkým hodnocením. Tyto netypické změny nazýváme vady a choroby vín.

O vadách a chorobách vín se hovoří čím dál častěji. Příčiny mohou být různé, vždyt při pěstování révy vinné a výrobě vína je mnoho faktorů, které tento proces ovlivňují. Na trhu je o taková vína zájem, vyrobená zajímavou technologií, která se jakkoliv odlišuje od ostatních. Je to snaha zamaskovat nedostatky vzniklé při výrobě nebo návrat ke staré technologii?

Nevím, ale jisté je, že některé vady jsou u konzumentů vyhledávané a žádané. Důležité je si vysvětlit, co jsou choroby vín a vady vín.

Choroby vín jsou způsobené metabolismem mikroorganismů, které jsou na hroznech, ve víně nebo v prostředí, kde se víno vyrábí a mají negativní vliv na senzoričké vlastnosti a kvalitu vín.

Vady jsou způsobeny chemickými a fyzikálními procesy při procesu výroby jako je čistota, barva, vůně, chuť a zhoršují senzoričké vlastnosti a kvalitu. Vždy záleží na vinaři, jak při výrobě bude postupovat, jak dokáže předejít těmto negativním vlastnostem a zda je dokáže odstranit.

Někteří vinaři jsou členy spolku „Autentisté“, který byl v České republice zaregistrován v roce 2013 a produkují vína silně oxidativní nebo s přítomností těkavých kyselin. Víno je vyráběno původními nemoderními technologiemi bez použití oxidu siřičitého a jiných přídatných látek.

Méně častým tématem u nás jsou nedostatky u červených vín způsobené kvasinkami rodu *Brettanomyces bruxellensis*-*Brett*- tóny ve víně.

Živočišné projevy u těchto vín se neprojevuje vzhledem, který je nezměněný, ale vůní či pachem koňského sedla, stáje, vesnického dvorku a chutí, která je octově kyselá nebo špekově živočišná. Kvasinky rodu *Brettanomyces* ovlivňují kvalitu vína negativně, ale

v nižších koncentracích ji mohou ovlivňovat i pozitivně, kdy přispívají ke komplexnosti a tento pozitivní vliv je závislý na geografickém původu a na nárocích odběratelů.

Co je pro jednoho odběratele považováno za chorobu vína s nepříjemnou chutí a vůní s možností nejistoty ohledně kvality u druhého je právě toto vyhledáváno jako projev dané oblasti a jedinečnosti.

2 CÍL PRÁCE

Cílem je prostudovat literaturu o technologii výroby vín. Sepsat vady a choroby způsobené kvasinkami rodu *Brettanomyces bruxellensis*, minimalizace nákaz a předcházení možných kontaminací způsobených nedostatečnou hygienou v provozech.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1.1 Kvasinky *Brettanomyces bruxelensis*

Kvasinky *Brettanomyces bruxelensis* patří do skupiny divokých kvasinek. Tyto kvasinky pochází z bobulí, hlavně z jejích slupek a z hroznů. Na hroznech svou přítomností nedominují, ale hrají významnou roli ve vývoji aroma vína (RENOUF a kol., 2006).

Kvasinky spolu s enzymy vinylphenol reduktázy skrze metabolickou přeměnu hydroxyskořicových kyselin tvoří tzv. těkavé fenoly. Tyto látky jsou zodpovědné za nestandardní projevy v červeném víně. Aroma takového vína připomíná vůni vesnického dvorku, koňskou stáj, zpoceně koňské sedlo, zeminu nebo uzené maso (EDER a kol., 2006; CURIEL a kol., 2010).



Obrázek 1: Detail kvasinky *Brettanomyces*

(<http://news.wsu.edu/pages/publications.asp?Action=Release&PublicationID=31151>)

3.1.2 Historie kvasinek rodu *Brettanomyces*

První historická zmínka o kvasinkách rodu *Brettanomyces bruxelensis* se píše již v roce 1904. Tehdy tyto kvasinky poprvé izoloval N.H.Claussen v pivovaru Carlsberg z piva.

Aroma a chuť, které kvasinky produkují, se stalo charakteristickým pro britská piva té doby. Název *Brettanomyces* vznikl odvozením od britského názvu „British brewing fungus“, tento název značí britské pivovarnické kvasinky.

Až od roku 1940, kdy M. T. J. Custers publikoval první studii o kvasinkách *Brettanomyces/Dekkera*, začaly tyto mikroorganismy být spojovány s vínem. Publikace pojednávala zejména o kvasinkách obsažených v pivu, ale jeden kmen těchto kvasinek byl izolován v roce 1933 z hroznového moštu původem z Francie. V padesátých letech 20. století publikovalo několik autorů o izolaci kvasinek rodu *Brettanomyces/Dekkera* z vína i v dalších státech jako je Španělsko, Austrálie, Itálie, Nový Zéland a USA (RODRIGUES a kol., 2000; OELOFSE, 2008; WEDRAL a kol., 2010).

3.1.3 Charakteristika kvasinek

Kvasinky řadíme do říše hub, které patří k jednobuněčným rostlinám. Řadíme je do oddělení dle pohlavního rozmnožování a to na *Ascomycota* – vřekovýtrusné houby, a *Basidiomycota* – stopkovýtrusné houby. Kvasinky, které se rozmnožují nepohlavní cestou. Ty řadíme do skupiny *Deuteromycota*. Tato skupina náleží pod oddělení *Ascomycota*. K rozmnožování u této skupiny kvasinek dochází dělením. energii získávají z cukrů a alkohol je vedlejším produktem jejich rozmnožování (KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ 1990, PRIEWE, 2003).

Brettanomyces bruxelensis jsou kvasící kvasinky, které kvasí pomaleji a patří do říše *Fungi*, třídy *Saccharomycetes* a řádu *Saccharomycetales*. *Brettanomyces* je označení pro nepohlavně se rozmnožující kvasinku rodu *Dekkera*. Druhy patřící do rodu *Brettanomyces bruxellensis* se rozmnožují nepohlavně, pučením. Ve vinařství je v největší míře *Dekkera bruxellensis* / *Brettanomyces bruxellensis* (FUGELSANG, 1997).

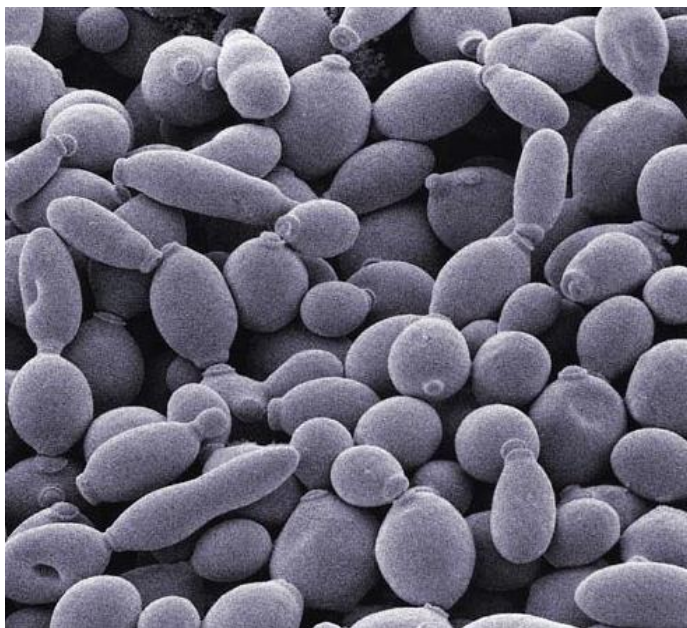
Nebyl prokázán žádný rozdíl mezi pohlavní a nepohlavní formou těchto kvasinek, které se vyskytují ve vinařství, tedy mezi anamorfní *Bretanomyces* a telemorfní *Dekkera*, proto není třeba jejich přítomnost rozlišovat a přistupuje se k universálnímu značení *Brettanomyces*. Jako příčinu výskytu animálních tónů ve víně je možné označovat *Brettanomyces bruxellensis* tak i *Dekkera bruxellensis* (WEDRAL a kol., 2010).

Buňky kvasinek mohou být vejčitého až protáhlého oválného tvaru. Jsou acidogenní, a v médiu bohatém na glukózu, jsou schopny tvořit velké množství kyseliny octové. Velmi dobře snášejí alkohol (až 18% obj.) a účinně dokážou prokvasit i malé množství zbytkového cukru (EDER a kol., 2006; OELOFSE, 2008; WEDRAL a kol., 2010).

Obsah SO₂ je látkou, která dokáže pozastavit množení kvasinek ve víně, ale jen dočasně a po odeznění zvýšené koncentrace SO₂ opět dochází k množení.

Brettanomyces bruxellensis jsou spojovány s vínem hlavně červeným. Není vyloučena jejich aktivita ani u vín bílých.

Pokud se objeví v červeném víně animální tóny, s jistotou tvrdíme, že jsou přítomny těkavé fenoly, které jsou produkovány díky metabolické přeměně hydroxyskořicových kyselin činností enzymů a kvasinek *Brettanomyces*.



Obrázek 2: Kvasinky *Brettanomyces* pod elektronovým mikroskopem (www.thepapershell.com, 2014)

3.2 Přehled technologie výroby vín

3.2.1 Výroba bílého vína

Od sklizně přes dopravu a příjem hroznů se dostáváme ke zpracování bobulí, které musí být rychlé a šetrné.

Mletí, drcení odzrnění

Mletí, drcení odzrnění nebo lisování celých hroznů bez třapin má pozitivní vliv na kvalitu vína. Způsob zpracování hroznů a získávání moštu ovlivňuje z 80% kvalitu konečného produktu (STEIDL, 2010).

Sířením pomocí disířičitanu draselného, který přidáváme přímo na hrozny během odstopkování a drcení ovlivníme činnost oxidačních enzymů, divokých kvasinek, bakterií a vyvázání vzdušného kyslíku. Čím dříve síření proběhne, tím lépe bude rmut chráněn před oxidací, zabrání se hnědnutí a podpoří se vývoj buketu a čistých tónů.

Macerace

Dalším krokem může být macerace, která závisí na odrůdě révy a typu vína, který vyrábíme a na stupni zralosti a zdravoti hroznů. Cílem je lepší uvolnění aromatických látek, které jsou vázané ve slupkách a těsně pod slupkou. Po vylisování je nezbytné odkalení moštu a úprava cukernatosti a obsahu kyselin před začátkem kvasného procesu.

Kvašení moštů

Kvašení moštů nebo alkoholové kvašení je nejdůležitější biochemický proces při výrobě vín a dělíme ho na spontánní a řízené kvašení.

U **spontánního** kvašení se klade důraz na kvalitu zralosti hroznů, je nutná kontrola průběhu kvašení a aplikace oxidu siřičitého, který nesmí překročit daný limit 50mg/l, s ohledem na rozmanitý obsah mikroflóry a minimalizace počtu bakterií. Toto kvašení je pomalejší, spektrum aromatických látek je bohatší a vyšší hodnota bezcukerného extraktu, díky kterému je víno chuťově plnější a odrůdově typické.

Řízené kvašení probíhá za pomoci aplikace ASVK a řízením teploty při celém kvasném procesu, která nesmí překročit 25°C. Při vyšších teplotách dochází ke ztrátám na obsahu alkoholu a aromatických látek a nástup jablečno-mléčného kvašení, které není vždy žádoucí u těchto vín. Můžeme se setkat i s technologií chladného kvašení, které probíhá v rozsahu teplot 13-18°C, kvasí déle a vyžaduje kontrolu obsahu volného oxidu siřičitého.

Školení a zrání vína

Tímto se rozumí doba po ukončení kvasného procesu, který probíhá reduktivním způsobem, aby se zabránilo větší oxidaci. Stočením mladého vína s minimálním kontaktem se vzduchem, abychom nepoškodili aromatický charakter konečného výrobku, provedeme odkyselení a tím konečnou úpravu kyselin a snažíme se v následujícím procesu zrání co nejméně stáčet do doby lahvování.

3.2.2 Výroba červeného vína

Základním předpokladem pro výrobu červených vín je výběr odrůd, vyzrálost a zdravotní stav hroznů. Šetrné zpracování hroznů a přeprava rmutu.

Barva je tvořena antokyaniny a chuť je závislá na obsahu a složení taninů ve slupkách a semenech bobulí.

Macerace rmutu

Dle stavu hroznů zasíříme, abychom potlačili octové bakterie a oxidační enzymy, které mohou způsobit problémy s barvou. Před macerací-nakvácením se obvykle přidává čistá kultura kvasinek – Aktivní sušená vinná kvasinka. Hlavním faktorem úspěchu macerace je teplota 28-30°C, naopak v chladném sklepě působí na kvalitu negativně na chuťovou plnost a nižší barevnost. Proces macerace na slupkách dělíme do tří stádií:

Předfermentační macerace ještě netvoří alkohol nebo málo a může probíhat i několik dnů.

Při alkoholovém kvašení se tvoří alkohol. Během tohoto procesu se tvoří CO₂, který nadnáší matolinový klobouk, jež musí být v kontaktu s moštem, aby se extrahovaly taniny ze slupek a semen. Kvašení rmutu může být otevřené s ručním ponořováním klobouku nebo uzavřené.

Pofermentační macerace trvá obvykle 8-30 dnů, ale může trvat i déle. Objemová procenta alkoholu mezi 10-16 %. Dle obsahu alkoholu dochází k uvolňování fenolických látek.

Úprava obsahu kyselin pomocí jablečno-mléčného kvašení se provádí po ukončení macerace. Biologické odbourávání kyselin by nemělo probíhat ve rmutu. Snížené nebezpečí výskytu sirky je ovlivněno odkalením po stažení vína ze rmutu. Stabilizaci barvy podporuje oddálení šíření mladého vína (cca 50 mg/l).

Nejtradičnější způsob výroby je macerace v otevřené nádobě, kde se musí nejméně dvakrát denně zamíchat obsahem nebo se volí technologie macerace ve vinifikátorech, které umožňují míchání a ohřev rmutu

Makrooxidace a mikrooxidace

Makrooxidace u červených vín probíhá prakticky již při kvašení a maceraci. Kvasící rmut je v kontaktu s kyslíkem, neboť je uložen v otevřených nádobách. Pozitivní vliv má přístup kyslíku, který působí na dynamiku kvašení, minimalizuje výskyt sirky a v případě jablečno-mléčného kvašení přímo na rmutu přispívá k rychlejšímu odvětrání tónů, které vznikají.

Makrooxidaci nelze aplikovat u nedokonale fenoliticky vyztřelých surovin, jelikož by mohlo dojít ke zhoršení kvality vína.

Mikrooxidace je proces, u kterého se naopak přidává velmi malé množství kyslíku do vína. Cílem mikrooxidace je dosažení žádoucích změn v aroma a v chuti vína.

3.2.3 Uskladnění červeného vína v barrikových sudech

Víno prochází určitými stádii zrání v době od alkoholového kvašení až po lahvování. Díky zrání v dubových sudech typu barrik získává víno na komplexnosti aroma, stabilizuje barvu a spontánně se čistí. Tyto sudy uvolňují určité množství látek, které vznikají během toustování - vypalování dřeva.

Tento technologický postup velmi vyhovuje kvasinkám rodu *Brettanomyces*. Toto prostředí, které je pro zrání červených vín ideální, jim velmi svědčí. Kvasinky žijí v pórech dřeva, až 8 mm hluboko, pod usazeninami, např. vinným kamenem. V těchto místech je velice obtížné kvasinky odstranit. Vrstvou sedimentů jsou chráněny před oxidem siřičitým, který se k nim nedostane. Zajímavou vlastností kvasinek *Brettanomyces* je schopnost metabolizovat neprokvasitelný disacharid cellobiosu. Ten vzniká odbouráváním celulózy, která je obsažená v dřevěné struktuře dubových sudů. Určitý výskyt, ale méně četný, je možno zaznamenat také v nových sudech typu barrik (KUMŠTA, 2007; EDER a kol., 2006; ROMANO a kol., 2008; SUÁREZ, 2007).

3.2.4 Infikace vína

Před dvaceti lety někteří vinaři věřili, že vypálení vinařství je jediná cesta, jak se zbavit těchto nechtěných kvasinek, ale od té doby svůj přístup změnili spíše k řízení pomocí různých prostředků. Nejlepší metodou jak kvasinky řídit je určitý technologický postup, který zahrnuje časté kontroly s přidavkem SO₂, časté sanitační úkony, udržování nízké teploty ve sklepech méně než 15°C a použití antimikrobiálních látek jako např. ozon.

Přítomnost kvasinek rodu *Brettanomyces* byla připisována nedostačující hygieně ve sklepech, kde kvůli tomu hrozí větší riziko kontaminace. I při pečlivé snaze udržovat odpovídající hygienické podmínky byla kontaminace těmito specifickými kvasinkami stále častá.

Proto začaly četné výzkumy zaměřující se na možnosti infikace kvasinkami *Brettanomyces bruxellensis* ještě dříve než v moštu. Dnes již známe další způsoby, které vysvětlují vznik těchto animálních tónů ve víně. Skutečný nositel původu kvasinek je ovšem stále předmětem diskuze, stejně jako příčina následné disperze buněk (EDER a kol., 2006; OELOFSE, 2008). Jedna z možností přenosu divoké kvasinky do vína je přímo z vinice, kde se tyto kvasinky přirozeně vyskytují hlavně na bobulích, kde ale nejsou dominantní oproti ostatním mikroorganismům, které tam můžeme najít, a také bylo zjištěno, že *Brettanomyces* je přítomna na hroznech napadených hnilobou octovou. Proto jsou vína vyráběná z méně kvalitních hroznů náchylnější na vznik této choroby. Nesmím opomenout, že na přenosu těchto kvasinek mají podíl i octomilky.

Stále však zůstává hlavní příčinou kontaminace nedostatečná hygiena ve vinařských provozech. Výzkumy ukazují, že přítomnost těchto kvasinek je vysoká především na zařízeních, která nejdou sterilizovat (čerpadla, hadice, transportní zařízení, apod.) (BAROŇ, ČERNOHORSKÁ, 2012).

3.2.5 Enologické podmínky

Počet kvasinek *Brettanomyces* v moštu je v porovnání s jinými rody velmi nízký. Velký nárůst kvasinek *Brettanomyces* je možno zaznamenat při naležení rmutu nebo při maceraci oxidem uhličitým a v průběhu a po dokončení alkoholové fermentace.

Brettanomyces bruxellensis se dokážou velmi dobře adaptovat na začátku alkoholové fermentace. Také ke konci kvašení se tyto kvasinky ukázaly jako daleko více odolné k

podmínkám zvýšeného alkoholu a úbytku cukru než *Saccharomyces cerevisiae* (SUÁREZ a kol., 2007; OELOFSE, 2008). Přítomnost kvasinek *Brettanomyces* je v porovnání s přítomností jiných rodů kvasinek velmi nízká. K velkému nárůstu populace může dojít, pokud se zformují podmínky, které vyhovují pomalému růstu tohoto kmene kvasinek. Tyto podmínky nastávají většinou v době, kdy je alkoholová fermentace dokončena a množení těchto kvasinek je umožněno díky obsaženým stopám zbytkového cukru. Během jablečno-mléčné fermentace je přítomnost kvasinek *Brettanomyces* spojována s nízkým obsahem volného oxidu siřičitého, určitou koncentrací zbytkového cukru a autolýzou kvasinek spojenou s mírnou mikrobiální nestabilitou (RENOUF a kol., 2006; WEDRAL a kol., 2010).

3.2.6 **Proces scelování vína**

Jedna z možností infekce kvasinkami *Brettanomyces* je tzv. scelování vín. Jedná se zejména o kupážování za účelem dosažení nejlepší kvality nebo doplňování nádob vínem s cílem zabránit oxidaci. Proto je velmi důležité s rozvahou a jistotou přistupovat k tomuto procesu scelování, protože původci nemoci se mohou rychle rozšiřovat a způsobit tak znehodnocení většího objemu vína (EDER a kol., 2006; ROMANO a kol., 2008).

3.2.7 **Vhodné podmínky pro rozvoj *Brettanomyces***

Brettanomyces bruxellensis jsou jedny z druhů kvasinek přítomných ve rmutu v menší míře než jiných rodů kvasinek, které se ale velmi dobře přizpůsobují podmínkám suchého červeného vína. Tato vlastnost je poněkud výjimečná. Vhodné podmínky nastávají v době, kdy je alkoholová fermentace dokončena a množení kvasinek je umožněno díky obsaženým stopám zbytkového cukru (RENOULF a kol.; 2008; WEDRAL a kol.; 2010).

Tyto kvasinky jsou rezistentnější k podmínkám, kdy je zvýšený obsah alkoholu a snížený obsah cukru než *Sacharomyces cerevisiae*. V určitých koncentracích jsou *Brettanomyces* odolné vůči oxidu siřičitému, vysokému obsahu alkoholu, nedostatku kyslíku a nízkému množství zkvasitelných cukrů a proto můžou být dobře aktivní během pomalé či zastavené alkoholové či malolaktické fermentace.

Kmeny kvasinek mohou růst také během zrání vína navzdory předešlým přísadkům oxidu siřičitého, číření nebo stáčení vína z kalů, které přispívají k větší mikrobiální stabilitě vína (KUMŠTA, 2007; ROMANO a kol., 2008; COULON a kol., 2010).

Bylo zjištěno, že produkce 4-etylphenolu výrazně napomáhají podmínky omezeného přístupu kyslíku. Za většího přístupu kyslíku k metabolické proměně hydroxyskořicové kyseliny p-kumarové na 4-etylphenol vůbec nedošlo (CURTIN a kol., 2013). Schopnost produkovat těkavé fenoly, zodpovědné za sensorické projevy vína infikovaného kvasinkami *Brettanomyces*, je vyšší při obsahu alkoholu pod 15 % alk. To znamená, že pro kvasinky *Brettanomyces* má vyšší obsah alkoholu inhibující účinky a představuje pro ně reálný stresový faktor zejména během fermentace (SUÁREZ a kol., 2007; OELOFSE, 2008; ROMANO a kol., 2008).

Dokonce byli někteří zástupci *Brettanomyces* izolováni ze sherry vín, kde je alkohol vyšší (IBEAS a kol., 1995). Toto je vysvětleno možnou přítomností jiných živin pozitivně ovlivňujících množení buněk kvasinek. Tyto kvasinky jsou rovněž schopny alkohol využívat jako zdroj uhlíku. Tolerance vůči etanolu je závislá na charakteru daného kmene *Brettanomyces bruxellensis* (KUMŠTA, 2007).

Teplota při skladování vína v dřevěných sudech hraje důležitou roli pro množení kvasinek a kolem 18 °C je pro reprodukci kvasinek vhodnější než optimálních 13 °C. Menší význam se přikládá hodnotám pH vína nebo obsahům zbytkového cukru a dokonce některé studie ukazují, že kvasinky *Brettanomyces* jsou v mnoha případech acidotolerantní (EDER a kol., 2006; OELOFSE, 2008; BENITO a kol., 2008; VIGENTINI a kol., 2008).

Některé zásahy ovlivňující kvasný proces mohou být pro růst kvasinek *Brettanomyces* stimulační. Konkrétně jde o vitamín B1- thiamin, který při nadměrném dávkování může populaci kvasinek výrazně zvýšit.

3.2.8 Kde se tvoří vůně, chuť a barva vína

Základ sensorických vlastností vína se vytváří již v hroznech během zrání ve vinici. Bobule révy vinné je možné označit za biochemickou továrnu. (Pavloušek, Burešová, 2015)

Díky těmto změnám dochází k tvorbě důležitých obsahových látek, které jsou uvolňovány díky činnosti mikroorganismů, kvasinek a bakterií a přetvářeny v sensoricky aktivní substance ve víně. Mezi ně řadíme cukry, kyseliny, dusíkaté, aromatické a fenolové látky.

Glukóza a fruktóza jsou **cukry** obsažené v hroznech při sklizni v poměru 1:1, sacharóza je minimální až nulová. Cukry se během kvašení mění na alkohol díky přítomnosti kvasinek,

kteře jsou glukofilní a proto nejdřívě zpracují glukózu a později fruktózu. Etanol je hlavním alkoholem ve víně.

Senzoricky aktivní ve víně je zbytkový cukr, jeho množství určuje typ vína, jakostní stupeň, odrůdu, ročník a technologii výroby.

Organické kyseliny v bobulích jsou kyselina vinná, která je nejsilnější a zodpovědná za kyselou, ostrou chuť ve víně v množství 5-10g/l. Při reakci s draselnými ionty může dojít ke krystalickému zákalu, který se objevuje na dně láhve tzv. vinný kámen. Jedná se o přirozený proces, který nesnižuje kvalitu moku a je důkazem přírodních procesů.

Díky kyselině jablečná, která poskytuje hroznům a vínu „zelenou chuť“ s ostrými, hrubými, nezralými tóny a její obsah je 2-5g/l. V hroznech je také zastoupena v minimálním množství kyselina citrónová, která přispívá ke svěží chuti vína a nesmí se do vína přidávat.

Při výskytu kyseliny glukonové jde o napadení hroznů šedou hnilobou *Botrytis cinerea*, která je také spojena s aktivitou octových a mléčných bakterií a tvorbou kyseliny octové.

Kyselina jantarová typická svou slanou až mírně hořkou chutí, která je spojována s minerálními tóny ve víně a kyselina mléčná vznikající ve víně při jablečno-mléčné fermentaci. Tato technologie je využívána při výrobě hlavně červených vín z hroznů vypěstovaných v naší republice.

Dusíkaté látky v hroznech a víně jsou zastoupeny anorganickou formou tvořenou amonnými ionty a organickou formou tvoří aminokyseliny, bílkoviny, vitamíny a polypeptidy. Tyto látky jsou především v moštu výživou pro kvasinky. Amonné ionty a volné asimilovatelné aminokyseliny představují tzv. asimilovatelný dusík v hroznech.

Aminokyseliny jsou prekurzory aromatických látek – vyšších alkoholů a esterů, které jsou základem ovocných a květinových vůní. Nízký obsah asimilovatelného dusíku vede k nízké populaci kvasinek a k tvorbě negativních látek sirnaté povahy a vyšších alkoholů způsobujících ve víně nepříjemné sirkové tóny a snižuje se tvorba látek způsobujících pozitivní aroma vín – esterů vyšších mastných kyselin. Těkavé kyseliny se objevují při nadměrném množství asimilovatelného dusíku, který způsobuje zvýšenou dynamiku kvašení.

Aromatické látky v hroznech důležitých pro sensorické hodnocení vína jsou skupiny sloučenin: terpeny, karotenoidy, norisoprenoidy, methoxypyraziny a prekurzory vonných thiolů, které se vyskytují ve slupce, dužnině a v moštu bobulí, jsou primárním aroma ve víně vyskytující se ve formě volné a vázané.

Volné aroma látky jsou velmi snadno sensoricky identifikovatelné, jedná se o látky skupiny terpenů a methoxypyrazinů. Sensorickým hodnocením bobulí lze určit správný čas sklizně dle odrůdy vína.

Vázaná forma nearomatických prekurzorů nelze sensoricky identifikovat, nejsou aktivní. Tyto aromatické látky jsou základem aromatické kvality vína a může být kvalitním odrazem terroir.

Terpeny jsou nejaktivnější aromatické látky. Monoterpeny jsou hlavní aromatické sloučeniny a hlavním seskviterpenem je rotundon, sloučenina zodpovědná za „pepřovité“ aroma ve slupkách bobulí a vínech.

Fenolové látky obsaženy v hroznech významným způsobem ovlivňují sensorické vlastnosti, především barvu, tríslovité a hořké tóny a celkovou plnost vína. Tyto sloučeniny jsou zdravotně prospěšné látky.

3.3 Těkavé fenoly

Příčinou projevů animálních tónů v červených vínech je zvýšený obsah těkavých fenolů. Jediným druhem objeveným ve víně je však pouze *Brettanomyces bruxellensis* / *Dekkera bruxellensis* (AGNOLUCCI a kol., 2010).

Těkavé fenoly představují skupinu látek, které mohou mít na víno v určitých koncentracích kladný vliv díky produkci látek, jako je např. vanilín. V tomto případě můžou v červeném víně vznikat žádoucí kouřové či kořeněné tóny. V této skupině látek mohou být i takové látky, které nejsou žádoucí a které nejsou po překročení určité hodnoty své koncentrace hodnoceny příliš kladně.

Mezi tyto fenoly patří etylfenoly (4-ethylfenol a 4-ethylguajakol), ale také vinylfenoly (4-vinylfenol, 4-vinylguajakol. Vysoké koncentrace 4-ethylfenolu v červeném víně jsou zodpovědné za tóny tzv. vesnického dvorku, zpoceného koňského sedla, koňského potu. Množství etylfenolů ovlivňující sensorické vlastnosti vína je tedy přímo úměrná jejich koncentraci v moštu nebo víně (EDER a kol., 2006).

3.3.1 Tvorba těkavých fenolů

Prekurzorem těkavých fenolů jsou hydroxyskořicové kyseliny, které vznikají především díky aktivitě *Brettanomyces* a negativně ovlivňují vůni a chuť vína. Hydroxyskořicové kyseliny patří mezi prekurzory 16 hlavních volatilních látek. Hydroxyskořicové kyseliny se vyskytují v hroznech, moštu i víně buď ve volné, nebo

vázané formě. Konečné množství těchto kyselin ve víně ovlivňuje způsob sklizně hroznů, drcení a doba macerace (V. HARRIS; 2011; RIBÉREAU-GAYON, 2006).

O tom, v jakém poměru, rozhoduje mnoho chemických a enzymatických reakcí během zrání hroznů, získávání moštu a výroby vína (HARRIS, 2011).

3.3.2 Hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxyskořicové kyseliny jsou v bobulích bezbarvé a mohou ovlivňovat kvalitu bílých vín, kdy při kontaktu se vzduchem dochází k jejich oxidaci a postupnému žloutnutí a hnědnutí. Tyto sloučeniny proto mohou způsobovat nahnědlé tóny u bílých vín podléhajících oxidaci.

Hydroxyskořicové kyseliny jsou skupinou přírodních sloučenin, odvozených od kyseliny skořicové, které mají široké spektrum biologických účinků včetně antioxidačních vlastností díky kyselině kávové, která se nepodílí na tvorbě těkavých fenolů.

Základní hydroxyskořicové kyseliny obsaženy v révovém víně jsou celkem tři, ale pouze dvě se podílejí na tvorbě těkavých fenolů a to kyselina p-kumarová, která je příčinou tvorby 4-vinyl a 4-etylfenolů a kyselina felurová za tvorbu 4-vinyl a 4-ethylguajacolů (KUMŠTA, 2007).

4-vinyl a 4-etylfenoly jsou zodpovědné za „plastové aroma“ a 4-vinyl a 4-ethylguajacoly, které jsou spíše charakteristické „medicinálním“ aroma.

Hydroxyskořicové kyseliny jsou obsaženy hlavně v dužnině bobulí, kde jsou v esterifikované formě s kyselinou vinnou především ve vázané formě – depsidy nejdůležitější z nich kyselina kaftárová. Tyto sloučeniny tvoří v samotocích 75% veškerých fenolytických látek. S délkou macerace je jejich poměr v moštu díky většímu vyluhování katechinů snižuje (KUMŠTA, 2007).

Hydroxyskořicové kyseliny jako jediné fenolické látky jsou přítomné v dužnině bobulí, vždy přecházejí do moštů, kde dle odrůdy, ročníku, stanoviště a způsobu zpracování je dáno jejich množství. Na koncentraci těchto kyselin má velký vliv vyzrálост hroznů a teplé stanoviště.

Termovinifikace, přídavky enzymů, mikrooxidace nebo teplota fermentace může také ovlivňovat obsah volných hydroxyskořicových kyselin ve víně. Na vzrůst obsahu těchto kyselin ve víně může mít také vliv malolaktická fermentace a ležení na kvasnicích a to díky rozpadu vinných esterů. Nemalý podíl na koncentraci těchto látek má i zrání vína. Hydroxycinamát dekarboxyláza přeměňuje hydroxyskořicové kyseliny do formy

vinylfenolů, jež jsou po té ve druhé enzymatické reakci redukovány na ethylfenoly (PAVLOUŠEK, 2011).

3.3.3 Vinylfenoly

Těkavé vinylfenoly 4-vinylguajacol a 4-vinylphenol, které se ve víně projevují jako plastová, lékárnická a připálená vůně, se vytvářejí zpravidla u bílých odrůd s bobulí, jejíž slupka je v okamžiku sklizně nahnědlá. Na tvorbě vinylfenolů se podílí kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia* spp, *Torulaspora* spp. a *Zygosaccharomyces* spp. jež však nemohou vytvářet ethylfenoly (PAVLOUŠEK, 2006).

Pro tvorbu vinylfenolů jsou optimální podmínky rozvoje omezené, a to pouze po dobu kvasného procesu. Tyto fenoly jsou přirozenou součástí bílých vín.

Červená vína obsahují vinylfenoly ve volné formě nízké koncentrace, protože se snadno vážou na antokyany. Je možné říci, že pokud mošt obsahuje volné hydroxyskořicové kyseliny, bude víno obsahovat vinylfenol. Senzorický projev u vína dokáže ovlivnit svou koncentrací.

3.3.4 Etylfenoly

Senzoricky výraznější etylfenoly, které tvoří kvasinky *Brettanomyces*. Enzymy podílející se na tvorbě etylfenolů jsou přítomny ve velkém množství bakterií, hub a kvasinek, ale redukční krok provádí většinou druhy *Dekkera bruxellensis*, *Dekkera Anomala*, *Pichia guilliermondii*, *Candida versatilis*, *halophila* a *mannitofaciens* (SUARÉZ aj., 2007).

Etylfenoly jsou produktem také mléčných bakterií a dlouhou dobu byla tato metabolická cesta považována za jedinou. Dnes už víme, že *Brettanomyces* jsou jediné mikroorganismy schopné vytvářet až několik miligramů etylfenolů na litr vína.

3.3.5 Využití enzymů

Ve vinařské technologii hrají enzymy důležitou roli. Pro správné použití je důležitá znalost povahy, působení a vzájemné vztahy. Enzymy jsou složité organické látky bílkovinné povahy vytvářené v rostlinných a živočišných buňkách. Bez nich bychom neměli ani pivo ani víno.

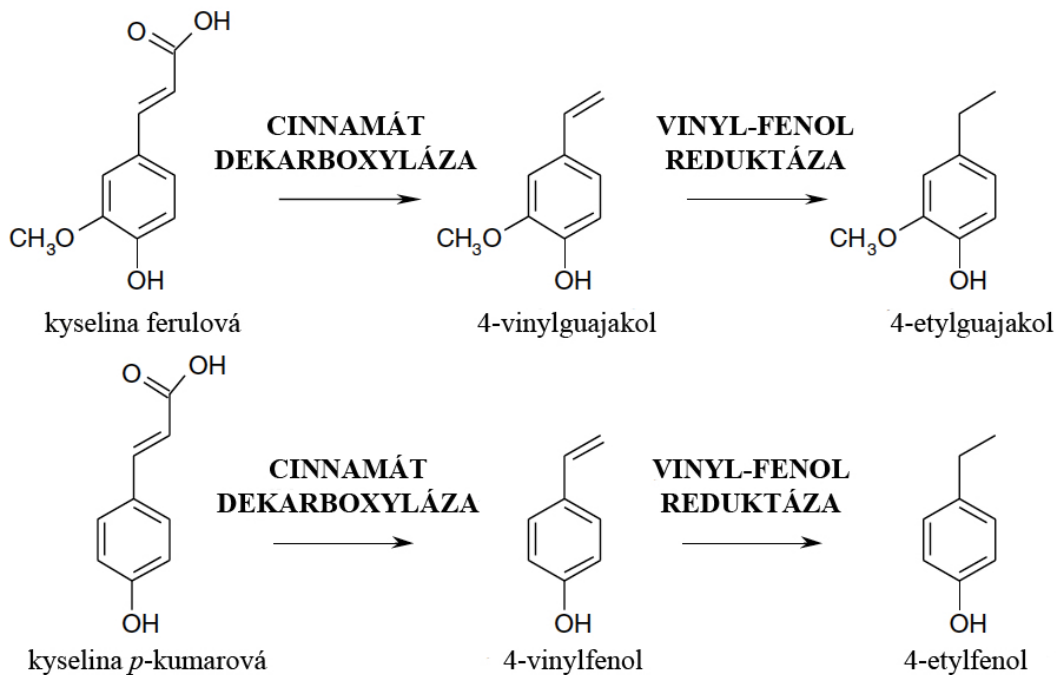
Enzymy rozkládající esterové vazby jsou v přírodě v četném zastoupení, ale jenom některé jsou schopny uvolňovat vázané hydroxyskořicové kyseliny, neoxidativní dekarboxylací přeměňují na vinylfenoly a posledním krokem je redukce na etylfenoly díky kterým má

víno specifický živočišný charakter. Tato přeměna je závislá na činnosti kvasinek *Brettanomyces*.

Cinnamát esteráza – nejaktivnější enzym, který tvoří v přírodě jenom několik mikroorganismů. Hlavní producent ve vinařství je plíseň *Aspergillus niger*, která napadá hrozny na teplejších místech a je důležitý pro produkci různých průmyslových preparátů, pektinolytických přípravků zvyšujících vylisnost rmutu. Výrobci takových preparátů své výrobky na přítomnost cinnamát esterázy testují, kvalitní preparáty by tak neměly představovat pro výrobu vína riziko (KUMŠTA,2007).

Cinnamát dekarboxyláza – transformuje hydroxyskořicové kyseliny enzymatickou aktivitou kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, enzymových výrobků nebo bakteriemi mléčného kvašení.

Vinyl - fenol reduktáza u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a u bakterií mléčného kvašení chybí úplně, proto u červených vín volatilních fenolů není velké množství. Vinylfenoly se za pomoci enzymů vinyl-fenol reduktázy redukují na etylfenoly aktivitou *Brettanomyces bruxellensis*.



Obrázek 3: Tvorba etylfenolů z jejich prekurzorů – hydroxyskořicových kyselin (Suárez a kol., 2006)

3.3.6 Lahvování vína

Zralé a vyškolené víno se plní do lahví z barevného skla. Vhodnost pro lahvování lze zjistit několika zkouškami, kdy jedna z nich je chuťová, víno necháme v neplné láhvi na vzduchu a v teple a pokud se nezakalí a nezmění barvu, tak je stabilní a může se lahvovat. Další zkouškou je tepelný test, kdy se víno zahřeje na 70°C pokud se v něm vysráží bílkoviny a změní barvu je nutné víno vyčistit.

Nefiltrované víno je stále riziko rozvoje kvasinek lahvováním a výskyt těkavých fenolů, které víno kontaminuje.

Veškeré úpravy a mikrobiální stabilizace vína před lahvováním mohou obsahovat rezidua kvasinek. Toto množství je zpravidla tak malé, že není možné, aby bylo schopno syntetizovat etylfenoly. (COULON a kol., 2010) Pokud víno po lahvování již určitou koncentraci obsahuje, může se zvýšit. U některých lahví se obsah těchto těkavých fenolů může znásobit a u jiných stejné šarže můžou být obsaženy pouze ve stopovém množství.

| | problém | Riziko |
|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Červené vs. bílé víno | Většinou červené | Problém <i>Brettanomyces</i> především souvisí s červeným vínem, i když se někdy vyskytuje i u vína bílého. Je to z důvodu vyšších úrovní SO ₂ , nižšího pH a méně prekurzorů v bílém víně. |
| Vinice | Poničené hrozny | Prekurzory již mohou být přeměněny na těkavé fenoly v brzké fázi procesu vinifikace. V tomto případě zbytečně neriskujte nízkými úrovněmi SO ₂ a v takovém případě i spontánní fermentací. |
| Špatná sklepní hygiena | Nesprávné čištění vinařského zařízení | <i>Brettanomyces</i> mohou být jedním z dominantních mikrobu způsobující „kažení“ vína a může být také velmi finančně náročné je z vinařství odstranit. |
| Macerace | Extenzivní a dlouhá | Může vést ke zvýšení množství substrátů a prekurzorů dostupných pro <i>Brettanomyces</i> . |
| SO ₂ a pH | Špatná aplikace | Antimikrobiální vlastnosti SO ₂ spočívají v molekulární formě. Udržujte molekulární SO ₂ > 0,5 ppm a nízké pH ~ 3,6 (červené víno). Také poměr 0,4 volného a celkového SO ₂ je ideální pro zajištění celkové mikrobiální stability. |
| Kyslík | Oxidativní podmínky | Nadměrné množství kyslíku zvýší růst a následnou produkci kyseliny octové <i>Brettanomyces</i> . Nádoby uchovávejte vždy plné. |
| Jablečno - mléčné kvašení | | Víno je nejvíce náchylné k <i>Brettanomyces</i> od začátku jablečno-mléčného kvašení a při zrání. Obsah volného SO ₂ je velmi nízký a antimikrobiální potenciál vína je také nízký. |
| Stáčení | Opožděné stáčení | Během této doby je obsah volného SO ₂ velmi nízký. Přidejte SO ₂ a vyčerte víno co nejdříve po jablečno-mléčném kvašení. |
| Hygiena sudů | Nedostatečná, kontaminované víno | Nesprávná sanitace. Kontaminace celé šarže. Zkrácení životnosti sudů. |

Tabulka č.1 Faktory pro minimalizaci infekce *Brettanomyces* (OENOMAGAZÍN)

3.4 Látky produkované kvasinkami *Brettanomyces*

Pachut' vzniklá činností mléčných bakterií při jablečno- mléčné fermentaci, která je nedílnou součástí výroby červených vín a v ročnících s vysokým obsahem kyselin se používá i při výrobě bílých vín.

Kromě pozitivní činnosti může docházet také k tvorbě nežádoucích sloučenin. Jedná se o kyselinu octovou, diacetyl, manitol a akrolein (PAVLOUŠEK, BUREŠOVÁ, 2014).

3.4.1 Kyselina octová – octovatění vína

Vzniká činností divokých mléčných bakterií patřících do rodu *Lactobacillus* a *Peddiococcus*. Tyto bakterie mohou vytvářet kyselinu octovou z cukrů a proto malolaktická fermentace vyžaduje velkou technologickou pozornost. Bakterie, které jsou schopné zpracovávat kyselinu citrónovou, vytvářejí ve víně vysoký obsah kyseliny octové. **Diacetyl** ve víně ovlivňuje vůni a chuť. Vzniká po odbourání kyseliny jablečné z kyseliny citrónové.

Na složení, stylu a stáří vína je závislý sensorický projev představující karamelové, oříškové či máselné tóny.

V nízkých koncentracích u bílých vín 1mg/l a u červených 5mg/l může příjemně doplňovat a zjemňovat chuť a aroma vína.

Manitol se vytváří činností hetero a homofermentativních bakterií. K jeho tvorbě dochází přeměnou fruktózy.

Sensorický projev představuje tóny octové, nasládlou chuť a tenká vína. Producenti manitolu jsou mléčné bakterie rodu *Lactobacillus brevis* a *kunkee* a *Oeniccoccus oeni*.

Akrolein vzniká přeměnou glycerolu za přítomnosti mléčných bakterií *Lactobacillus*. Sensorické projevy jsou hlavně u červených vín hořké tóny díky reakci akrolenu s fenoly.

Octovatění vína můžeme předejít již ve vinici správným provedením zelených prací a vhodnou chemickou ochranou. Vše je nutné provést v pravý čas, čímž zabráníme vzniku, případně rozvoji, hniloby hroznů. Následně je důležitá kontrola hroznů a určení enologické zralosti. Hrozny je nutno vytrítit nebo, pokud není jiné cesty, odstranit. Nejdůležitější preventivní opatřením je pravidelné čištění a dezinfekce nádob a zařízení, které přichází do kontaktu s produkty od sklizení hroznů přes zpracování, až po hotové a zrající víno. U nádob s plovoucím víkem hrozí riziko nákazy a vzniku octovatění vína, zvláště v případě nedostatečné sanitace míst utěsnění (Steidl, 2010).

Předejít tvorbě bakterií kyseliny octové a nežádoucích druhů „divokých“ kvasinek je nutno před začátkem fermentace rmuty a mošty zasířit dávkou 25 - 50 mg·l⁻¹ SO₂. Při nahnilosti hroznů musíme dávku SO₂ zvýšit a urychlit nástup kvašení. U octových bakterií se nedostatkem kyslíku téměř zastaví rozmnožování. Divoké druhy kvasinek potlačíme použitím čistých kultur kvasinek. Urychlení kvašení můžeme docílit i přidáním zdravého bouřlivě kvasícího moštu do čistého moštu v dávkách 1 – 2 % celkového obsahu k bílému moštu a 2 – 5 % celkového obsahu k červeným rmutům. Zde si však musíme být vědomi, že kvasinky začnou produkovat větší množství acetaldehydu. Vhodná teplota k rozvoji kvasinek je 18 – 20°C, dále je důležité udržovat nízké teploty kvašení (Eder a kol., 2006). U vín je důležité mít nádoby zcela plné. Vína skladujeme při nízkých stálých teplotách a pravidelně kontrolujeme obsah volného oxidu siřičitého, který podle potřeb doplňujeme a udržujeme jeho hodnoty podle druhu vína (Steidl, 2010).

Při napadení vína octovými bakteriemi musíme dbát ve vinařském provozu na hygienu a předejít tak kontaminaci vín v ostatních nádobách. Zároveň je však důležité odstranění potenciálního zdroje kontaminace. U nádob naplněných vínem, napadeným těkavými kyselinami, je nutné provést pečlivé vyčištění a dezinfekci. Nádoby je třeba propařit a poté provést mokrou konzervaci (Eder a kol., 2006).

3.4.2 Myšina

Myšina je méně častá, ale komplexní choroba vína. Postihuje chuť vína několik sekund po polknutí, kdy se na patře a jazyku rozvine a nepříjemná dlouho trvající chuť a nosem identifikovat je možné pouze v případě silného napadení vína. Často je takto napadené víno zaměňováno za víno s lehkou sirkou.

Senzorickým projevem je „zápach po myší moči“, zatuchlost dlouho nevětrané místnosti způsobené heterocyklickými dusíkatými sloučeninami. Je způsobena činností mléčných bakterií, octových bakterií a kvasinek rodu *Brettanomyces*.

Většinou ji najdeme ve vínech s nízkým obsahem kyselin a vysokým pH.

Vysoké teploty, naoxidování vína a špatné nakládání s oxidem siřičitým přináší riziko této choroby.

Myšina je spojena spíše s vínem než s mošty. Napadá nejčastěji mladá vína s nízkým obsahem kyselin, alkoholu a SO₂, vysokou hodnotou pH a zbytkovým cukrem, zejména fruktózou, která je po alkoholové fermentaci převládající. Napadená vína jsou většinou dlouhodobě skladována na kvasničných kalech při vyšších teplotách, případně u nich

probíhá pomalá nebo bouřlivá alkoholová fermentace s teplotami nad 30° a vína jsou nedostatečně ošetřena oxidem siřičitým.

V současnosti ještě není zcela jasné, co myšinu způsobuje. Víme jen, že vzniká činností mikroorganismů, které ale dosud nebyly dostatečně prozkoumány. Látky zapříčiňující tuto chorobu vznikají až v průběhu kvašení, nikoli v moštu.

Stárnutím vína projevy myšiny ustupují. Proto se tato choroba ve starších ošetřených vínech téměř neobjevuje. Vyskytuje se u vín, u nichž proběhla neřízená spontánní malolaktická fermentace.

V teplém klimatu naopak myšinu způsobují kvasinky rodu *Brettanomyces*.

Prevence vůči myšině spočívá zejména v zajištění dostatečného množství asimilovatelného dusíku pro výživu kvasinek, plynulé alkoholové fermentaci probíhající za nízkých teplot, reduktivních podmínek a v nádobách uzavřených kvasnými zátkami. Zvláště důležité je u moštů a vín dbát na dostatečné ošetření oxidem siřičitým a jejich včasné stočení z kvasničných kalů. Největší pozornost vyžadují vína s nízkým obsahem kyselin, zejména kyseliny vinné (Kraus, Hubáček, Ackermann, 2010; Kumšta, 2007).

3.4.3 Těkavé mastné kyseliny

Existují těkavé mastné kyseliny, které produkují kvasinky *Brettanomyces*, které mají negativní vliv na kvalitu vín. Zástupci této skupiny jsou kyselina isovalerová, 2-metylbutanová a izomáselná.

Senzorické vlastnosti již při nízkých koncentracích, hlavně aroma je popsáno jako pro víno škodlivé se zápachem po ztuchlině, potu nebo žluklém sýru.

3.5 Metody Identifikace kvasinek *Brettanomyces*

Mezi tyto metody patří **kultivace**. Jejich předností je finanční dostupnost, rychle provedení ale na výsledek se musí čekat několik dní. Tato metoda je nedostačující v rychlosti a přesnosti.

Daleko přesnější je **metoda PCR**, která se dá považovat za jednu z nejlepších současných metod identifikace kvasinek rodu *Brettanomyces* ve víně. Nezbytná je izolace DNA, která je pro tyto kvasinky specifická dodáním enzymů, které rozruší jejich buněčnou stěnu a umožní správné vyizolování.

PCR metoda detekce kvasinek rodu *Brettanomyces* přináší při správném postupu a výběru primerů vždy dobrý výsledek. Nejvhodnější metodou amplifikace DNA je real-time PCR, díky kterému je možné pozorovat hodnoty nárůstu kvasinek průběžně.

Základním předpokladem dobře provedené PCR reakce je výběr vhodných primerů. Pro kvasinky rodu *Brettanomyces* je navrženo několik možných primerů, které jsou pro tento rod specifické. Tato vlastnost sebou přináší velkou výhodu při detekci, neboť se soustřeďuje jen na konkrétní rod a záměna s jiným rodem kvasinek není možná. Výsledek je tedy velmi přesný.

3.6 Odstranění vad, chorob a jejich prevence

Při výrobě vína se vyskytuje mnoho faktorů, které mohou zhoršovat konečnou kvalitu vína. Důležitá je včasné rozpoznání a prevence nežádoucích mikroorganismů ve víně a následná kontrola v předfermentační a fermentační přípravě a během stabilizace a zrání vína.

Některé choroby a vady vín jsou trvalé a některá vína mají možnost záchrany. Způsoby jak se bránit projevům živočišných tónů v červeném víně je několik a dají se rozdělit na technologické, fyzikální a chemické.

3.6.1 Technologické metody

Představují prevenci, která není nijak ekonomicky nákladná a vyžaduje pouze dodržování určitých pravidel.

Zralost hroznů je první pravidlo, které je dobré dodržovat a sbírat hrozny, kdy je nejlepší soulad cukernatosti, kyselin, hodnot pH, aromatické a fenolytické zralosti tzv. enologická zralost.

Příjem hroznů u modrých i bílých odrůd je stejný. Sklizené hrozny je nutné co nejrychleji dopravit ke zpracování, aby se předešlo rozmnožování oxidačních enzymů, vyluhování chlorofylu, tříslovin a kyseliny šťavelové z nezaschlých třepin.

Hygienické podmínky jsou od fáze převzetí hroznů až po lahvování vína sterilní a pro prevenci výskytu kvasinek velmi důležité. Řádná dezinfekce veškerého technologického zařízení včetně hadic, armatur a ventilů (EDER a kol., 2006).

Kvašení je nutné zabezpečit co nejdříve od zpracování hroznů. Anaerobní podmínky kvašení brzdí růst populace divokých kvasinek, a je tedy možné takto zabránit i pozdější tvorbě těkavých fenolů (KUMŠTA, 2007).

Odstranění usazenin převážně z dřevěných sudů a následná dezinfekce plynným SO₂ v dávce nejméně 30mg/l⁻¹ objemu nádoby.

3.6.2 Fyzikální metody

Tyto metody se považují za nejméně nebezpečné, vzhledem k aditivům, které se do produktu během ošetření nedostanou, ale může docházet k degradaci určitých látek obsažených ve víně. Tyto degradace mohou být pozitivní i negativní povahy pro výsledné organoleptické vlastnosti vín.

Ve vinařství některé metody přetrvávají již 150 let, některé jsou teprve ve fázi testování.

Ultrafialové záření je elektromagnetické záření s vlnovou délkou kratší než má viditelné světlo, avšak delší než má rentgenové záření.

Toto záření je studováno jako možná metoda bez přílišného možného ovlivnění sensorických vlastností. Je testováno za účelem snížení koncentrace SO₂ během výroby vína již řadu let (BAROŇ; 2013).

Metoda je účinná proti celé řadě mikroorganismů, se kterými se můžeme setkat ve víně, jako jsou například *Brettanomyces*.

Pulsní elektrické pole je technologie představující rychlou „bezohřevnou“ a vysoce účinnou techniku pro inhibici patogenních mikroorganismů v potravinách, aniž by došlo ke kvalitativním změnám.

Tuto technologii lze využít ve vinařství jako alternativní systém mikrobiologické kontroly. Při vhodném použití vede až k 99,9% snížení mikroflóry, která způsobuje znehodnocení moštů a vína například u *Brettanomyces sp.* a *Laktobacillus sp* (SANTOS, 2012; EL DARRA, 2013; PUERTOLAS, 2009, BAROŇ, 2013).

Čiření vína znamená přidání adsorpčního materiálu do moštu nebo vína s cílem odstranit nebo snížit obsah nežádoucích látek, díky nim získáme kvalitní čistotu vína, barvu, aromatický a chuťový projev a zabezpečíme stabilitu vína.

Účinnost je závislá na použitém čířicím prostředku a jeho množství, způsobech úpravy a aktivace před čiřením, pH vína, obsahu kovů, teplotě, stáří vína a použité technologii při výrobě.

Čiření díky bílkovinám dle dávky a druhu čířidla vede až k 400-2000 násobnému snížení počtu buněk *Brettanomyces*. Jedná se o preventivní opatření před stočením do sudu.

Filtrace je separační technika k zachycení pevných částic, aniž by se tím ovlivnily sensorické vlastnosti vína. Tato kvalita závisí na druhu použité filtračního materiálu a hlavně na velikosti jeho pórů.

Brettanomyces procházejí běžným 0,45 μ m kvasničnými filtry a představují tedy problém u vína zrajícím v láhvi. Sterilní cross-flow filtrací s póry o velikosti 0,22 μ m lze dosáhnout až úplného odstranění kvasinek *Brettanomyces sp.* Filtraci je však potřeba zvážit vzhledem k tomu, že se u tak silné filtrace jedná o velký zásah do vína (KUMŠTA, 2007; EDER a kol., 2006; COULON a kol., 2010).

3.6.3 Chemické metody

Je třeba si uvědomit, že přidáním těchto látek do vína může jeho charakter změnit a také ovlivnit jeho zdravotní nezávadnost. Tyto metody jsou provozně méně náročné a levné.

Vyšší mastné kyseliny s počtem uhlíků 16 a 18 jsou důležité pro aktivaci fermentace a naopak kyseliny, které obsahují 8 a 10 uhlíků v řetězci vykazují fungicidní účinky. Praktickým využitím mastných kyselin může být zastavení alkoholové fermentace – MUTAGE.

Jde o kyselinu dekanovou (kaprylovou) a kyselinu octanovou (kaprinovou). Přidáním těchto kyselin do kvasícího moštu prokázalo zastavení růstu nežádoucích kvasinek **Dimetyldikarbonát (DMDC)** potravinové aditivum, které je silně antimikrobiální, jejíž maximální inhibiční účinek nastane již brzy po jejím přidání. Po aplikaci inhibuje stěžejní glykolytické enzymy. Výhodou preparátu může být nízká závislost účinnosti na pH.

Velmi účinným se ukázalo použití DMDC k ošetření *botrytických* vín, jelikož dochází k rapidnímu poklesu potřeby síření v průběhu skladování (BAROŇ, 2013).

V roce 2007 byly ve Francii zkoumány antimikrobiální účinky dimetyldikarbonátu (DMDC) na víno napadené kvasinkami *Brettanomyces bruxellensis* v různých stádiích výroby vína.

Bylo zjištěno, že antimikrobiální účinky dimetyldikarbonátu (DMDC) se mohou objevit i u jiných mikroorganismů jako je *Saccharomyces cerevisiae* a *Oenococcus oeni*, a proto by nemělo dojít k použití před koncem fermentace. Přesto může být použit jako poslední antimikrobiální prostředek před lahvováním vína (RENOUF a kol., 2008). Přesto v průběhu zrání je jeden přírůstek nedostačující.

Podobný výzkum proběhl i na Ústavu vinohradnictví a vinařství Mendelovy univerzity v Brně, zahradnické fakulty v Lednici a bylo zjištěno, že k potlačení kvasinek

Brettanomyces bruxellensis je koncentrace 150mg.l⁻¹ Dimethyldikarbonátu dostačující a k inhibici kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* o 100mg.l⁻¹ více. Stejně jako u předchozího výzkumu bylo zjištěno, že účinky dimethyldikarbonátu nejsou trvalé (BAROŇ, 2013).

Oxid siřičitý má ve vinařství značný význam, protože síra ve víně působí jako stabilizační a konzervační prostředek. Běžné množství síry je zdravotně nezávadné, ale ve vyšších koncentracích je zodpovědná za bolesti hlavy po konzumaci.

Oxid siřičitý ve víně působí antisepticky, antioxidačně a protienzymaticky. Pro ochranu červeného vína je důležitý poměr molekulového neboli aktivního oxidu siřičitého k volnému oxidu siřičitému. Závislá na prostředí vína, pH, etanolu, obsahu živin, teplotě, obsahu antokyaninů je právě molekulová forma oxidu siřičitého a její koncentrace ve víně. Při použití dávky molekulární SO₂ 0,5-0,8 mg.l⁻¹ je efekt na *Brettanomyces bruxellensis* dostatečný.

Při vyšším pH je doporučena koncentrace více než 50mg.l⁻¹ volné SO₂. Vyšší přídavky však představují riziko (KUPSA a kol., 2011; EDER a kol., 2006; RENOUF a kol., 2008).

Oxid siřičitý provází celý proces výroby od posbírání hroznů až po lahvování, kdy je třeba udržovat alespoň minimální obsah tohoto oxidu.

Komerční přípravek No Brett Inside je přirozený polysacharid získaný z chitinu (z houby *Aspergillus Niger*).

Aktivita *No Brett Inside* inaktivuje *Brettanomyces* ve víně a chrání tak před vznikem nežádoucího aroma. Výsledky vědecké studie a testy v praxi dokumentují silný účinek přípravku proti *Brettanomyces*. Efektivně zabrání nežádoucímu aroma způsobeného kvasinkou *Brettanomyces*, je sensoricky neutrální a ovocnost vína zůstává chráněna.

Jakmile se kaly po stáčení zapravují do půdy, začínají půdní organismy chitosan zpracovávat.

No Brett Inside není alergenem. Optimální doba aplikace je po malolaktickém kvašení a doporučená dávka je 4g.hl⁻¹ a maximální 10g.hl⁻¹. (www.lipera.cz, 2014)

Při identifikaci kvasinek vycházíme z jejich morfologických, fyziologických a biochemických vlastností. Zařazení do taxonomické skupiny posuzujeme podle morfologie kvasinek. Botanické druhy, případně variety, nám pomáhají diferencovat fyziologické a biochemické vlastnosti.

3.7 Hodnocení vín

Kvalita je závislá od pěstitelských podmínek a zpracovaných odrůd po technologický proces a finální úpravy vína.

Hodnocení kvality se skládá ze sensorického hodnocení a chemické analýzy.

Chemické hodnocení se provádí v chemických laboratořích a je důležité pro zjištění výsledného charakteru vína v závislosti na terroir a na dodržování stanovených norem.

Smyslové hodnocení neboli sensorické dovede odhalit, zda jsou všechny složky v harmonii a může zjistit i závažné vady nebo negativní jevy ve vzhledu, vůni a chuti.

Senzorické hodnocení je založeno na porovnávání vzorků vín smyslovými orgány, hlavně zrakem, kdy hodnotíme vzhled, čistotu, konzistenci a barvu, u vůní intenzitu a kvalitu aroma a sladění chutí kyselé, sladké a trpké.

Dříve se používal 20 bodový systém a nyní se více přiklání k 100 bodovému, kdy čím více bodů, tím větší kvalita.

3.7.1 Hodnocení živočišnosti u napadených vín

Senzorické projevy po napadení kvasinkou *Brettanomyces* jsou označovány jako živočišné a spadají do Seznamu odchylek, chorob a vad vína v Komisi inspekce.(www.szpi.cz,2015)

3.7.2 Znaky pro vyřazení vína

| ZNAK | | NEGATIVNÍ HODNOCENÍ | SENZORICKÝ VJEM |
|----------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| vzhled | 1 | neodpovídající, plovoucí nečistoty | pevné částice a nečistoty ve víně |
| | 2 | neodpovídající, zakalené, opalizující | vykazující mlhavý až mléčný zákal, víno postrádá jiskrnost |
| | 3 | neodpovídající, sediment na dně láhve | usazenina na dně láhve |
| | 4 | neodpovídající, nahnědlý odstín | nahnědlý odstín způsobený oxidací, případně jinými nežádoucími biochemickými pochody ve víně |
| netypická, neodpovídající označení a jakosti | | barva vína jiná než je typické pro víno a deklarovanou jakost | |
| vůně | 5 | cizí, netypická pro víno vyrobené z hroznů révy vinné | jiná než určuje tato vyhláška, a charakteristika pro víno, např. po aromatech, kovu, ropných produktech, filtračním materiálu |
| | 6 | netypická, po | ostrá, štiplavá po octu, kyselině |

| ZNAK | | NEGATIVNÍ HODNOCENÍ | SENZORICKÝ VJEM |
|-------|----|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | nežádoucích těkavých látkách | octové a acetonu |
| | 7 | netypická, nežádoucích biologických procesech | po nečistá, po živočišných, jogurtových a máselno-mléčných tónech, zkažených vejcích, mléčné, máselné, druhotná fermentace, sirka |
| | 8 | neodpovídající, myšíně | po po myších výkalech až vypečeném toastu |
| | 9 | neodpovídající, oxidu siřičitém | po štiplavá po kyselině siřičité |
| | 10 | neodpovídající, oxidativní | po navětralé až jablečné tóny bez aroma vína po oxidaci, až aldehydické tóny |
| | 11 | neodpovídající, plísni | po tóny plesnivého chleba napadeného zelenou plísní <i>Penicilium</i> a trouchnivělého starého dřeva, sudu |
| | 12 | neodpovídající, korku | po po korku, korek |
| | 13 | neodpovídající, pelargonii | po tóny po listu pelargonie, muškátu |
| chut' | 14 | cizí, netypická pro víno vyrobené z hroznů révy vinné | jiná než určuje tato vyhláška, a charakteristika pro danou odrůdu např. po aromatech, kovu, ropných produktech, filtračním materiálu |
| | 15 | netypická, nežádoucích těkavých látkách | po ostrá, štiplavá po octu, kyselině octové a acetonu |
| | 16 | netypická, nežádoucích biologických procesech | po nečistá, po živočišných, jogurtových a máselno-mléčných tónech mléčné, máselné, druhotná fermentace, sirka |
| | 17 | neodpovídající, myšíně | po po myších výkalech až vypečený toast |
| | 18 | neodpovídající, oxidu siřičitém | po štiplavá po kyselině siřičité |
| | 19 | neodpovídající, oxidativní | po navětralé až jablečné tóny bez aroma vína po oxidaci až aldehydické tóny |
| | 20 | neodpovídající, plísni | po tóny plesnivého chleba napadeného zelenou plísní <i>Penicilium</i> a trouchnivělého starého dřeva, sudu |
| | 21 | neodpovídající, pelargonii | po tóny po listu pelargonie, muškátu |
| | 22 | neodpovídající, korku | po po korku, korek |
| | 23 | neodpovídající, | dochuť vodová, bez extraktu |

| ZNAK | | NEGATIVNÍ HODNOCENÍ | SENZORICKÝ VJEM |
|---------------------------------------|----|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | prázdná | |
| | 24 | neodpovídající, neharmonická, nevýrazná | jiná než určuje tato vyhláška, méně příjemná až nepříjemná |
| perlení (u šumivého a perlivého vína) | 25 | neodpovídající označení | jiná než určuje tato vyhláška, bez perlení, slabé perlení vykazující známky tichého vína u šumivého nebo perlivého vína, hrubé, krátkotrvající |

3.7.3 Znaky pro sestupnění vína

| | | | |
|-------|----|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| barva | 26 | na jakostní i víno bez CHOP | mírně odlišné barevné tóny |
| vůně | 27 | na jakostní | netytická, neodpovídající označení, menší odchylky ve výraznosti a typičnosti požadovaného zatřídění |
| | 28 | na víno bez CHOP | netytická pro danou odrůdu, neodpovídající označení |
| chuť | 29 | na jakostní | netytická, neodpovídající označení, menší odchylky ve výraznosti a typičnosti požadovaného zatřídění |
| | 30 | na víno bez CHOP | netytická pro danou odrůdu, neodpovídající označení |

Tabulka 2: Seznam odchylek, chorob a vad vína v Komisi inspekce (www.szpi.cz,2012)

3.7.4 Vliv fenolů na senzorické aroma vín

Fenoly či spíše etylfenoly jsou látky, které jsou zodpovědné za aroma koňského sedla, vesnického dvorku. Některé látky přítomné ve víně dokážou maskovat vysokou koncentraci etylfenolů, přestože analytickým měřením bylo zjištěno, že hodnoty jsou nepřahové, a přesto nejsou označovány jako živočišná. Volatilní fenoly ve víně jsou

doprovázeny syntézou karboxylových kyselin. Jde o kyseliny izomáselnou a isovalerovou, které mají vliv na sensorické vnímání živočišných tónů ve víně.

Jednoduché fenoly jsou derivovány ze sudů, v nichž zraje víno a svými sensorickými projevy jsou etylfenolům podobné. Jedná se o látky s typickými kouřovými, lékárenskými, kořenitými projevy nebo aromatickými vlastnostmi kůže (ROMANO a kol., 2008).

Nadprahové vnímání koncentrací obsahuje polovinu z více než osmdesáti různých volatilních sloučenin. Pokud je některá dominantní, může být příčinou sensorické nepřijatelnosti vína. *Brettanomyces* se sensoricky projevují na základě koncentrace, ve které jsou tyto látky ve víně obsaženy. Tyto látky mohou přispět k mohutnosti červeného vína díky kořeněným tónům (ČERNOHORSKÁ, 2014).

| | |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Vzhled | beze změny |
| Vůně | sladká, sladce ostrá, z pocené koňské sedlo, pot, kůže, krev, dehet, vesnický dvorek, koňská stáj, kouř, feká, mokrý pes, lanýž |
| Chuť | živočišná, špekově živočišná, sladce ostrá, uzené maso, octově kyselá, kořeněná, hřebíček |

Tabulka 3: Sensorické projevy červených vín napadených kvasinkou *Brettanomyces* (STEIDL, 2002; EDER, 2006; BAKKER, 2004)

3.7.5 Oblasti s *Brett* charakterem vín

Na tzv. *Brett* charakter vín není jednotný názor. Tento typ aroma je některými konzumenty vyhledáván, někteří výrobci na něm dokonce založili své podnikání.

Ve Francii mnoho producentů se přiklání k teorii, že malá koncentrace tohoto charakteru přidává na komplexitě a označují jej za projev terroir.

Burgundská oblast je těmito tóny známá, zejména odrůda ‚*Pinot Noir*‘ se údajně rozvíjí po několika letech ležení vína na láhvi, kdy vínu dodává v malém množství velmi stylové, bohaté tóny.

V Novém světě se s těmito tóny u červených vín také setkali a přisuzovali je tamnímu jedinečnému projevu terroir způsobené přítomností vulkanické čedičové půdy. Později se samozřejmě prokázala pravá příčina, kterou je aktivita kvasinek *Brettanomyces* a tvorba těkavých fenolů. (MICHLOVSKÝ, 2013; www.lambloch.com, 2014)

4 DISKUSE

Obliba vína a jeho konzumace u nás roste. Z tohoto důvodu jsem si vybrala toto téma bakalářské práce, kde jsem se snažila popsat veškeré souvislosti spojené s výskytem *Brettanomyces* ve víně. My, jako konzumenti, jsme stále náročnější. Snažíme se získat více informací vztahujících se k samotné výrobě vín, terroir dané oblasti, odrůdám, způsobu pěstování révy a samozřejmě i k sensorickému hodnocení vůní a chutí vín.

Víno vnímám jako fenomenální nápoj, kterého výsledná chuť závisí na mnoha faktorech od pěstování révy vinné ve vinohradu až po samotnou technologii výroby.

Tím se dostáváme k problematice chorob vín a tím k živočišným tónům převážně u červených vín způsobených působením kvasinek *Brettanomyces bruxellensis* zodpovědných za pach koňského sedla, stáje, vesnického dvorku. Pro někoho choroba a pro jiného známka terroir.

Důvodem, proč se tato choroba vyskytuje převážně u červených vín, zřejmě souvisí se zráním vína v sudech, kde se vytváří takové podmínky, které vyhovují pomalému růstu kvasinek. Tyto podmínky nastávají po dokončení alkoholové fermentace při průběhu jablečno-mléčného kvašení, kdy je obsažen zbytkový cukr a nízký obsah volného oxidu siřičitého. Kvasinky *Brettanomyces bruxellensis* jsou schopny během výroby vína vytvářet těkavé fenoly – ethylfenoly, které jsou produkovány díky metabolické přeměně hydroxyskořicových kyselin.

Kvasinky identifikujeme pomocí sensorických vlastností, hlavně chuti a díky kultivacím nebo metodě PCR. Při včasném rozpoznání, mají některá vína možnost záchrany pomocí čiření a filtrace.

5 ZÁVĚR

Při pročítání literatury o révě vinné a o výrobě vín jsem zjistila mnoho zajímavostí, které mě velmi překvapily a obohatily. Jsou oblasti, které aroma způsobené kvasinkami vyhledávají a díky těmto animálním tónům mají víno odlišné chuti a tím i marketingový záměr, který má upoutat pozornost zákazníka. U nás je tento charakter vína brán jako choroba.

Je možné předcházet těmto živočišným aroma vín hlavně dodržováním hygienických pravidel a postupů při výrobě, včas měnit sudy, ve kterých víno leží a dostatečným šířením rmutu při zrání.

Samozřejmě záleží na rozhodnutí, jaké víno vyrobit chci a tomu musím přizpůsobit práce od zelených až po ty ve sklepě. Záleží také na kvalitě hroznů, kdy ze zdravých a správně zralých se vyrábí víno daleko snáze a výsledek je jedinečný při dodržení všech enologických postupů než z hroznů které jsou napadeny hnilobou a vše je náročnější a výsledek nemusí vždy dopadnout kladně.

6 SOUHRN

Při psaní této bakalářské práce jsem zjistila, že víno je velmi zranitelné od zrodu bobulí až po nalahvování. Nejzranitelnější doba je po alkoholovém kvašení do začátku malolaktické fermentace, kdy je víno nechráněno a při zrání.

Minimalizaci rizika infekce a rozvoji kvasinek předejdeme správnou hygienou sklepů, šířením rmutu dostatečnou hladinou SO₂ při zrání vína, řádným čištěním sudů nebo jejich včasným vyřazením z provozu, udržováním plných sudů a sterilním plněním lahví.

Klíčová slova: kvasinky, víno, choroba

7 RESUME

During writing my Bachelor's dissertation, I found out that wine is very vulnerable from the born of berries to the bowling. The most vulnerable time is after the alcoholic fermentation from the beginning of the malolactic fermantation, when wine is not protected.

We can prevent from the minimization of infection and development of yeast the right hygiene of our cellars, suplhurating mash with the sufficient surface of SO₂ during the maturation of wine, with the right cleaning of barrels or their well – timed elimination from the service. We can also prevent from it keeping the barrels full and and sterile fulling the bottles.

Key words: yeast, wine, disease

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AGNOLUCCI, Monica, Francesco REA, Cristiana SBRANA, Caterina CRISTANI, Daniela FRACASSETTI, Antonio TIRELLI a Marco NUTI. Sulphur dioxide affects culturability and volatile phenol production by *Brettanomyces/Dekkera* bruxellensis. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2016-03-30, roč. 143, 1-2, s. 76-80 ISSN 01681605. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.022. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20705352><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20705352>

52

BAROŇ, Mojmír. *Nový pomocník při výrobě vína: Dimethyldikarbonát*. Vinařský obzor, 2013, 2013(2013) [cit. 2016-05-06]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: www.vinarskyobzor.cz

BAROŇ, Mojmír. *Možnosti snížení obsahu oxidu siřičitého ve víně: část II* [online]. Vinařský obzor, 2013, 2013(9) [cit. 2016-05-06]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: www.vinarskyobzor.cz

BAROŇ, Mojmír a Dominika ČERNOHORSKÁ. Animální tóny v červených vínech. *Vinařský obzor* [online]. 2013, 2013(4) [cit. 2016-03-07]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: www.vinarskyobzor.cz

BENITO, S., F. PALOMERO, A. MORATA, F. CALDERÓN a J.A. SUÁREZ - LEPE. *Factors Affecting the Hydroxycinnamate Decarboxylase/Vinylphenol Reductase Activity of Dekkera/Brettanomyces: Application for Dekkera/Brettanomyces Control in Red Wine Making*. *Journal of Food Science* [online]. [cit. 2016-02-12]. 2009, roč.74,č.1,M15-M22, ISSN00221147 Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2008.00977.x>

Identifikace a kontrola *Brettanomyces* ve vinici a ve vinařství. *OENOMAGAZÍN* [online].Kobylí, 2013, 2013(6), 10 [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <http://www.oenomagazin.cz/index.php?idvyrb=57&exe=clanek>

COULON, J., M.C. PERELLO, A. LONVAUD-FUNEL, G. DE REVEL a V. RENOUF. *Brettanomyces bruxellensis* evolution and volatile phenols production in red wines during storage in bottles. *Journal of Applied Microbiolog* [online]. 2010, roč.108, č.4, s 1450-1458 [cit. 2016-05-06]. ISSN 13645072. DOI: 10.1111/j.1365- 2672.2009.04561.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-672.2009.04561.x>

CURIEL, Jose Antonio., Héctor RODRÍGUEZ, José María LANDETE, Blanca DE LAS RIVAS a Rosario MUÑOZ. *Ability of Lactobacillus brevis* strains to degrade food 58 phenolic acids. *Food Chemistry* [online].[cit.2016-05-06].2010,vol.120,issue 1,s.225-229 Dostupné z: DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.10.012

CURTIN, Chris D., Geoffrey LANGHANS, Paul A. HENSCHKE a Paul R. GRBIN. *Impact of Australian Dekkera bruxellensis* strains grown under oxygen-limited conditions on model wine composition and aroma. *Food Microbiology* [online]. 2013, vol.36, issue2, s. 241-247[cit. 2016-04-06]. Dostupné z: DOI: 10.1016/j.fm.2013.06.008.

ČERNOHORSKÁ, Dominika. *Porovnání analytických a senzoričských vlastností vín napadených Brettanomyces/Dekkera* [online]. Lednice, 2014 [cit. 2016-02-06]. Dostupné z: <https://is.mendelu.cz/lide/clovek.pl?zalozka=13;id=22044;studium>. Bakalářská práce. Mendelova Univerzita v Brně. Vedoucí práce Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

EDER, Reinhard. *Vady vína*. Vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 263s. ISBN 80-903-201-6-3.

FREDERICKS, Ilse N., Maret DU TOIT a Maricel KRÜGEL. *Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines*. *Food Microbiology* [online].[cit.2016-04-25]. 2011, vol. 28, issue 3, s. 510-517. Dostupné z: DOI: 10.1016/j.fm.2010.10.018

FUGELSANG. *Wine microbiology*. New York: Chapman, c1997, 245s. ISBN 04-120-6611-4.

IBEAS, Jose Ignacio, Ignacio LOZANO, Francisco PERDIGONES a Juan JIMENEZ. Detection of Dekkera Brettanomyces strains in Sherry by a Nested PCR Method. *Applied and environmental microbiology* [online]. 1996, s. 998-1003 [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC167864/pdf/620998.pdf>

HARRIS, Victoria. *Physiological, biochemical and molecular characterisation of hydroxycinnamic acid catabolism by Dekkera and Brettanomyces yeast* [online]. The University of Adelaide, 2011 [cit. 2016-01-16]. Dostupné z: <https://digital.library.adelaide.edu.au/>.

KUPSA, Jan a Petra BÁBÍKOVÁ. *Brettanomyces a jejich význam při výrobě vína. Sady a vinice*. 2011, 2011(6), 22-23. ISSN 1336-7684. Dostupné také z: <https://is.mendelu.cz/lide/clovek.pl?id=21229;zalozka=5;lang=cz>

KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1. Bratislava: Alfa, 1990. ISBN 80-05-00644-6.

KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ. *Kvasinky a kvasinkové mikroorganizmy*. 1. Bratislava: Alfa, 1982. ISBN viaz.

KUMŠTA, Michal. *Hydroxyskořicové kyseliny: Část 1* [online]. 2007, 2007(6) [cit. 2016-05-06]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: www.vinarskyobzor.cz

KUMŠTA, Michal. *Hydroxyskořicové kyseliny: Část 2: Těkavé fenoly* [online]. 2007, 2007(7-8) [cit. 2016-05-06]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: www.vinarskyobzor.cz

KRAUS, Vilém, Vítězslav HUBÁČEK a Petr ACKERMANN. *Rukověť vinaře*. 3. Praha: Brázda, 2010. ISBN 978-80-209-0378-5.

LIPERA [online]. 2016 [cit. 2016-03-11]. Dostupné z: www.lipera.cz

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Encyklopedie degustace vína*. Vyd.1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2013. 179 s. ISBN 978-80-905319-1-8.

OELOFSE, Adriaan. *Investigating the role of Brettanomyces and Dekkera during winemaking*. [online]. Stellenbosch University, 2008 [cit. 2016-02-22]. Dostupné z: scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/1239. Disertační. Science. Stellenbosch University. Vedoucí práce Prof. M. du Toit.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. 1. Praha: Grada, 2006. 100s. ISBN 80-247-1247-4.

PAVLOUŠEK, Pavel a Pavla BUREŠOVÁ. *Vše co byste měli vědět o víně... a nemáte se koho zeptat*. 1. Praha: Grada Publishing, 2015. 144s. ISBN 978-80-247-4351-6.

PRIEWE, J. *Nová škola vína: [vše o světě vína]*. Vyd.1. Praha: Knižní klub, 2003. 256s. ISBN 80-242-1047-9.

RENOUF, Vincent, Pierre STREHAIANO a Aline LONVAUD-FUNEL. *Effectiveness of dimethyldicarbonate to prevent Brettanomyces bruxellensis growth in wine*. *Food Control* [cit.2016-03-06] 2008, vol 19, isme 2, s.208-216 Dostupné z: DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.03.012

RIBÉREAU-GAYON, Pascal, Denis DUBOURDIEU a Bernard DONÈCHE. *Handbook of enology* [online]. 2nd ed. Hoboken: John Wiley, 2006 [cit. 2016-05-01]. ISBN 04-700-1037-1. Dostupné z: www.wiley.com/./productCd-0470010347.html

RODRIGUEZ, N., G. GONCALVES, S. PEREIRA-DA-SILVA, M. MALFEITOFERREIRA a V. LOUREIRO. *Development and use of a new medium to detect yeasts of the genera Dekkera/Brettanomyces*. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2001[cit. 2016-05-06]. ISSN 1365-2672. Dostupné z: DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01275.x

ROMANO, A., M.C. PERELLO, G.de REVEL a A. LONVAUD-FUNEL. *Growth and volatile compound production by Brettanomyces/Dekkera bruxellensis in red wine*. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2008, roč. 104, č. 6, s.1577-1585 [cit. 2016-05-06]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03693.x

Státní zemědělská a potravinářská inspekce.[online] *Seznam odchylek, chorob a vad vína pro senzorické hodnocení v Komisi Inspekce*. [cit. 2016-01-26] 2015: Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz>

STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. 2. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2.

STEIDL, Robert a Renner WOLFGANG. *Moderní příprava červeného vína*. V českém jazyce 2. Valtice: Národní salon vín, 2003, 72 s. ISBN 80-903201-2-0.

SUÁREZ, SUÁREZ-LEPE, MORATA a CALDERÓN. *The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera Brettanomyces and Dekkera: A review*. *Food Chemistry* [online]. 2007, 102(1) [cit. 2016-05-06]. ISSN 03088146. Dostupné z: DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.03.030

Vinařský obzor [online]. 2013, 2013 [cit. 2016-05-05]. ISSN 1212-7884. Dostupné z: <http://www.vinarskyobzor.cz/>

VIGENTINI, Ileana, Andrea ROMANO, Concetta COMPAGNO, Annamaria MERICO, Francesco MOLINARI, Antonio TIRELLI, Roberto FOSCHINO a Gaspare VOLONTERIO. *Physiological and oenological traits of different Dekkera/Brettanomyces bruxellensis strains under wine-model conditions* [online]. 2008, [cit. 2016-01-06]. Dostupné z: DOI: 10.1111/j.1567-1364.2008.00395.x

WEDRAL, Danielle, Robert SHEWFELT a Joseph FRANK. *The challenge of Brettanomyces in wine*. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2010, roč. 43, č.10, s. 1474-1479 [cit. 2016-05-06]. ISSN 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.06.010
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643810002288>

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| Obrázek 1:Detail kvasinky Brettanomyces..... | 11 |
| Obrázek 2: Kvasinky Brettanomyces pod elektronovým mikroskopem..... | 13 |
| Obrázek 3: Tvorba etylfenolů z jejich prekurzorů | 25 |

10 SEZNAM TABULEK

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabulka 1: Faktory pro minimalizaci infekce Brettanomyces..... | 26 |
| Tabulka 2: Seznam odchylek, chorob a vad vína v Komisi inspekce..... | 36 |
| Tabulka 3: Senzorické projevy červených vín napadených kvasinkou Brettanomyces | 37 |