

Kvasné procesy ve víně

Alena Doležalová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav analýzy a chemie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alena DOLEŽALOVÁ**
Osobní číslo: **T10019**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Kvasné procesy ve víně**

Zásady pro vypracování:

- 1. Složení a výroba vína z vinné révy**
- 2. Morfologie, cytologie a způsoby rozmnožování kvasinek**
- 3. Úloha kvasinek ve víně**
- 4. Kvasinky divoké a kulturní**
- 5. Vliv kvasinek na jakost vína**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **MORENO-ARRIBAS, M a M POLO.** Wine chemistry and biochemistry. New York: Springer, c2009, xv, 735 p. ISBN 978-0-387-74116-1.
2. **JANDEROVÁ, Blanka a Olga BENDO VÁ.** Úvod do biologie kvasinek. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1999, 108 s. ISBN 80-718-4990-1
3. **ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila.** Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: ACADEMIA, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6
4. **WILLEY, Joanne M, Linda SHERWOOD, Christopher J WOOLVERTON, Lansing M PRESCOTT a Joanne M WILLEY.** Prescott's microbiology. 8th ed. New York: McGraw-Hill, c2011, 1 v. (various pagings). ISBN 00-773-5013-8.
5. **ROP, Otakar a Jan HRABĚ.** Nealkoholické a alkoholické nápoje. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4.
6. **EDER, Reinhard.** Vady vína. Vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 263 s. ISBN 80-903-2016-3.
7. **PAVLOUŠEK, Pavel.** Výroba vína u malovinařů. 2. aktualizované a rozšířené vydání. Praha: Grada publishing, 2010, 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.

Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

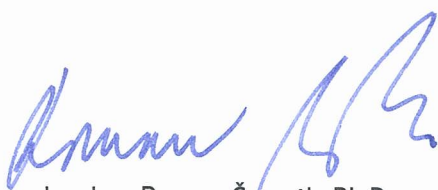
Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

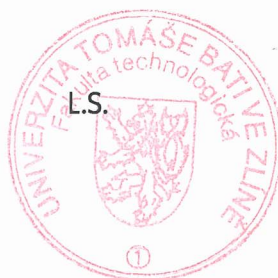
17. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena/a s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 13. 5. 2013


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo napsat literární rešerši popisující kvasné procesy ve víně prováděné kvasinkami divokými nebo čistou kulturou kvasinek. Kvasinky přirozeně se nacházejí na povrchu hroznu. Při spontánním kvašení právě tyto divoké kvasinky startují fermentaci v moštu, poté během hlavního kvašení přebírá kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* dominantní roli. Naopak čistá kultura je naočkovaná do moštu eliminovaného od mikroorganismů, čímž se dosáhne řízené fermentace. Vliv kvasné technologie má vliv na sensorickou stránku vína. Spontánně kvašená vína se mohou chlubit svou jedinečností, plnou chutí a kompletním spektrem aromatických látek.

Klíčová slova: víno, kvašení, kvasinky, alkoholové kvašení, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

The aim of this work was to write a literary research describing the processes of fermentation in wine by wild yeast or pure culture yeast. Yeasts naturally occur on the surface of the grape. In spontaneous fermentation, these wild yeasts start the fermentation in the must, then during the main fermentation yeast *Saccharomyces cerevisiae* dominates. On the contrary, pure culture is inoculated into the must from which microorganisms have been eliminated, which results in controlled fermentation. Fermentation technology influences sensory aspects of wine. Spontaneously fermented wines can be valued for their unique taste and a complete range of aromas.

Keywords: wine, fermentation, yeast, alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

Děkuji svému vedoucímu práce panu MVDr. Ivanu Holkovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, poskytnutí materiálů a užitečných rad, které mi pomohly ke zpracované mé bakalářské práce a dále za jeho čas, věnovaný konzultacím mé práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

I	ÚVOD	10
II	TECHNOLOGIE VÝROBY VÍNA A JEHO CHEMICKÉ SLOŽENÍ	11
2.1	Zrání hroznů a sklizeň	12
2.2	Drcení hroznů a příprava rmutu	12
2.3	Nakvašování rmutu pro výrobu červených vín	13
2.4	Lisování rmutu	13
2.5	Upravování moštu	13
2.6	Kvašení moštu	14
2.7	Číření vína	14
III	KVASINKY A JEJICH CHARAKTERISTIKA	16
3.1	Morfologie kvasinek a způsoby rozmnožování.....	17
3.1.1	Rozmnožování kvasinek	17
IV	KVASNÉ PROCESY VE VÍNĚ	20
4.1	Alkoholové kvašení.....	21
4.1.1	Kvasinková mikroflóra v moštu.....	21
4.1.2	Růst kvasinek v různých fázích kvašení	22
4.1.3	Populace kmenů kvasinek přirozené mikroflóry během fermentace vína	23
4.1.4	Faktory ovlivňující kvašení vína	24
4.1.5	Stres kvasinek v průběhu kvašení	26
4.1.6	Biochemie alkoholového kvašení.....	27
4.2	Malolaktická fermentace	29
4.2.1	Vliv biogenních aminů	29
V	KVAŠENÍ SPONTÁNNÍ A ŘÍZENÉ	31
5.1	Spontánní kvašení.....	31
5.2	Řízené kvašení.....	33
VI	VLIV KVASINEK NA KVALITU VÍNA	35
6.1	Vliv produktů fermentace na charakter vína	35
6.2	Čisté kultury kvasinek a jejich vliv na kvalitu vína	37
6.3	Srovnání technologie spontánního a řízeného kvašení.....	38
VII	ZÁVĚR	40
VIII	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41
IX	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	45
X	SEZNAM OBRÁZKŮ	46
XI	SEZNAM TABULEK	47

1 ÚVOD

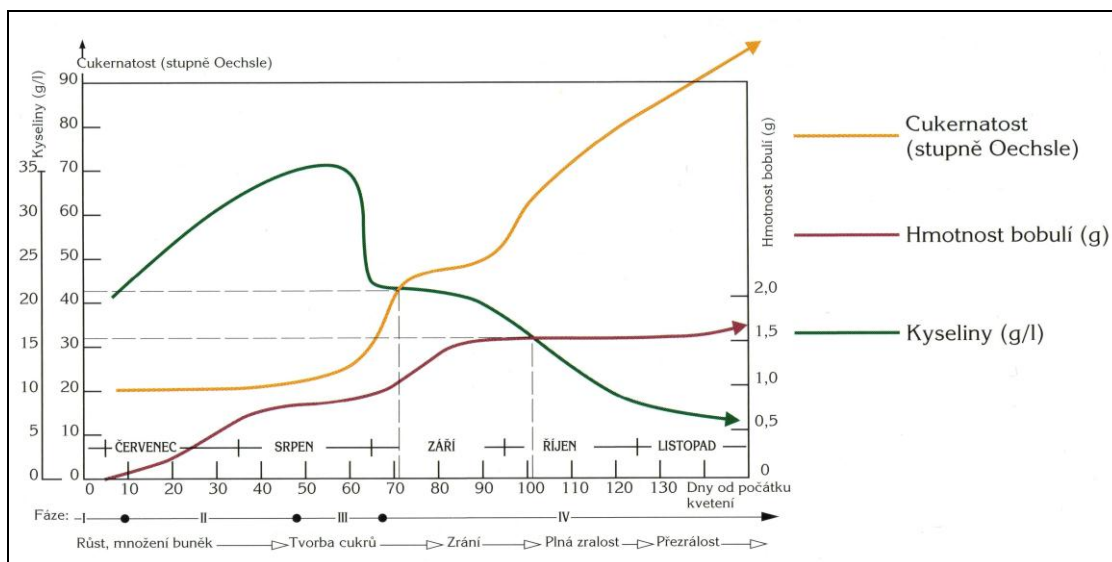
Trvalo poměrně dlouho, než byla zcela objasněna teorie kvašení. Pasteur sice dokázal, že nositeli alkoholového kvašení jsou mikroorganismy, které se dostaly do procesu ze vzduchu, nedostal se však k jeho úplnému objasnění. Dnes je známo, že alkoholové kvašení cukrů se děje účinkem celého komplexu enzymů, které postupně odbourávají molekuly cukrů. Při kvašení se mění činností enzymů kvasinek cukry na alkohol a oxid uhličitý, který z moštu uniká. [15]

Víno je alkoholický nápoj vyrobený z hroznů révy vinné pravé. Patří k nejcennějším alkoholickým nápojům. Hospodářská komise Evropské unie definuje víno jako: „Produkt vzniklý pouze alkoholovým kvašením, úplným nebo částečným, z čerstvých hroznů, rozemletých či celých, nebo moštu získaného z hroznů“. [10] 90 % hroznů se ve světě zpracuje na víno a asi zbylých 10 % se použije k přímé spotřebě nebo na výrobu nealkoholických nápojů. V ČR se spotřeba vína pohybuje okolo 15 litrů na obyvatele ročně. [7]

Cílem této práce je vypracování literárního přehledu přibližujícího složité mechanismy fermentačních a jiných chemických a biologických procesů probíhajících při výrobě vína a možnosti jejich ovlivnění.

2 TECHNOLOGIE VÝROBY VÍNA A JEHO CHEMICKÉ SLOŽENÍ

Znalost chemického složení a jeho metabolická přeměna během růstu hroznu, sklizně, kvašení a ležení patří mezi nejzákladnější znalosti dobrého vinaře. Ze znalosti tohoto chemického složení jsme v technologii schopni korigovat výrobu vína tak, aby výsledek byl co nejkvalitnější. Nejdůležitější aspekty chemického složení jsou cukry a kyseliny. Hlavními cukry ve víně je glukóza a fruktóza. Během doslazování se přidává sacharóza, kterou jsou schopny kvasinky také metabolizovat na alkohol. Podle charakteru budoucího vína vinař určuje dobu sklizně. Spolu s cukry sleduje i množství kyselin, které se v průběhu zrání snižuje. Pro zpracování většinu vín nejsou nedozrálé hrozny vhodné, neboť by mohly s sebou přenášet tóny „zelené chuti“ a trpkou ostrou chuť.



Obrázek 1: Sledování cukernatosti a obsahu kyselin [10]

Kvalita vína je z 80 % ovlivněná zpracováním hroznů. To se dotýká nejenom charakteru vína a jeho způsobilosti k ležení, ale i mnohých pracovních zákroků, kterými dochází ke změnám mikroflóry, a tím také ke změně podmínek pro kvasný proces. Důležité je rychlé a šetrné zpracování. Zejména bezodkladným a zbytečně nepřerušovaným zpracováním se šetří aroma, a zvládá se tak mikrobiální situace. [35]

Parametr	Obsah
Voda	83 %
Ethanol	12 %
Glycerol	cca 1 %
Zkvasitelné cukry	1 %
kyseliny (vinná, jablečná, mléčná, jantarová a další)	0,8 %
minerální látky (PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , SiO_4^{4-} , Na, Mg, K, Fe a další)	0,3 %
dusíkaté látky (aminy, bílkoviny, aminokyseliny)	0,25 %
oxid uhličitý	0,03 %
třísloviny	0,02 %
vitaminy	0,001 %
buketní látky (estery, laktáty, acetaly, karbonylové sloučeniny)	0,001 %

Tabulka 1: Chemické složení bílého vína [7]

2.1 Zrání hroznů a sklizeň

Hrozny se sklízí při jejich technologické vyzrálosti, je třeba kontrolovat nejen cukernatost, ale i zdravotní stav a obsah kyselin. Červené hrozny se sklízí při dokonalé vyzrálosti. Napadené hrozny se sbírají selektivně, aby neovlivňovaly kvalitu hlavního podílu sklizně. Negativně působící plísně jsou *Aspergillus* a *Penicillium expansum*, které jsou původci ochratoxinu, ten způsobuje patologické změny na ledvinách a pravděpodobně má i karcinogenní účinky. Projevem bílé hniloby jsou bakterie octového kvašení. [10]



Obrázek 2: Proměrování cukernatosti ručním refraktometrem [10]

2.2 Drcení hroznů a příprava rmutu

Drcením se zvýší vylisnost a zabrání se zapaření. Při drcení by měla prasknout každá bobule, nesmí se však poškodit pecičky a trápina, způsobilo by to vyluhování nežádoucích

látek, jako jsou třísloviny, oleje a chlorofyl. Vzniká rmut. Pro výrobu bílých vín se rmut okamžitě lisuje. U aromatických odrůd se provádí nakvášení po dobu 6 hodin, účelem je vyloužení aromatických látek ze slupek, rozložení pektinu, a tím i zvýšení výlisnosti. Jsou to odrůdy Rulandské, Tramín, Ryzlink rýnský, Sauvignon apod. Při výrobě červených vín se rmut modrých hroznů musí nechat nakvášet déle pro vyloužení tříslovin a anthokyanových barviv. [7]

2.3 Nakvašování rmutu pro výrobu červených vín

Doba vyluhování závisí na vyzrálosti hroznů, jejich zdravotním stavu a dále na nakvašovací teplotě. Po určité době se vlivem osmotického tlaku vyrovnají koncentrace barviv ve slupce a v kvasícím moštu. Vznikající oxid uhličitý vynáší na povrch nečistoty, které tvoří pevnou vrstvu, tzv. klobouk. Stykem se vzduchem probíhá na povrchu klobouku octové kvašení. V částech klobouku, které nejsou ponořeny do kvasícího rmutu, nedochází k vyluhování barviv, proto se musí v pravidelných intervalech nořit. U nás nejpoužívanější způsob nakvašování probíhá v otevřených nádobách s volně plujícím kloboukem. Nádoby se plní do $\frac{3}{4}$ objemu a klobouk se ručně pomocí hřebel noří v pravidelných intervalech do rmutu. Víno je tak velmi kvalitní, ale nevýhodou je značná časová náročnost a nutnost ruční práce. [7]

2.4 Lisování rmutu

Zpočátku lisování se rmut stlačuje pozvolna, občas se tlak přeruší, aby mohlo odtéci co nejvíce moštu. Tlak se zvyšuje teprve ke konci lisování. [12] Rmut se nedoporučuje lisovat vyšším měrným tlakem než 1,6 MPa. [7] Během lisování je možné oddělovat jednotlivé podíly moštu. Samotok se řadí k prvnímu podílu a je vhodný pro velmi jemná, lehčí vína, nebo po naležení drtě i pro vína plnější. Střední podíl se většinou přidává k samotoku. Na závěr se při vyšším tlaku dolisuje asi 10 % moštu – a to je tzv. dotažek neboli dolisek. Dotažek má více taninů, draslíku, barviv a hořčin ze slupek a také z peciček. Má nižší obsah kyselin i cukrů a zpracovává se zvláštním způsobem školení na víno stolní. [10] Celková výlisnost se pohybuje okolo 70 až 75 %.

2.5 Upravování moštu

K základním úpravám moštu patří úprava cukernatosti, kyselosti a síření vín. Úprava moštu docukřením se používá pro dosažení harmonické rovnováhy chuti s kyselinami a ethano-

lem. Tímto krokem si také zajistíme vyšší procento alkoholu u výsledného vína. Zvyšování cukernatosti ovšem nelze aplikovat na přívlastková vína, můžeme tedy při docukřování hovořit pouze o vínech jakostních a stolních. Odkyselování moštů je možné u velmi nepříznivých ročníků. Ke snížení kyselosti se používá uhličitan vápenatý, se kterým reaguje především kyselina vinná za vzniku vínanu vápenatého a úniku CO_2 . [7] [10] Síření se provádí zvláště u neuspokojivého zdravotního stavu hroznů ve vysokých dávkách. Sířením se chrání mošt před oxidací a infekčními mikroorganismy. Zároveň se podporuje tvorba glycerolu při kvašení. SO_2 se váže na místo vzdušného kyslíku, čímž dochází k ochraně proti oxidaci. V moštu vzniká kyselina sírová a následně síran draselný, čímž dochází ke zvyšování pH. SO_2 dále působí jako rozpouštědlo aromatických látek, taninů a anthokyanů. Fyziologické působení na lidský organismus může být při vysokých dávkách nebezpečné. SO_2 by mohl vyvolat akutní krátkodobou toxickou reakci nebo chronickou nesnášenlivost. Nebezpečná dávka je stejná jako při požití kuchyňské soli, tedy 1,5 g na kg hmotnosti člověka. [10]

2.6 Kvašení moštu

Kvašení moštu je podrobně rozebráno v další kapitole, kde je popsána mikrobiální flóra a jeho působení na mošt v různých fázích. Dále je popsáno kvašení spontánní a řízené.

2.7 Čiření vína

Čiření slouží k zušlechťování a stabilizaci vín. Samočištěním vína se jen málokdy dosáhne takového stupně čistoty a takové stability vína, jakou vyžaduje současný trh. Klasickým způsobem čiření je přidání bílkoviny s kladným nábojem, která reaguje s částicemi kalu s negativním nábojem. Dochází k neutralizaci a srážení. Bílkovinným čiřením dochází k menšímu vyloučení taninů z vína, obsah aromatických látek se může lehce snížit, ale zvyšuje se čistota a jemnost vína. Pro bílkovinné čiření se mohou použít želatiny, vyzina (z měchýře ryby vyzy), vaječný bílek, kasein či kvasnice. Další možnost vyčeření je pomocí betonitů, to jsou zeminy pocházející hlavně z rozkladu vulkanického popela obsahující silikáty vápníku, sodíku, hliníku. Bentonit je možné přidávat do moštu, a snížit tak obsah bílkovin, odstranit zbytky pesticidů, snížit činnosti oxidačních enzymů a zajistit vznik zákalů.

Pro vysrážení bílkovinných čiridel se následně používají taniny. Kromě odstraňování bílkovin také dobře působí na stabilizaci anthokyanů v červených vínech. Podobně jako tani-

ny funguje i gel kyseliny křemičité. Aktivní uhlí se vyznačuje velkou absorpční schopností a uplatňuje se při odebrání nadměrného zabarvení bílých vín nebo při odstraňování nejrůznějších pachutí. [10]

3 KVASINKY A JEJICH CHARAKTERISTIKA

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy náležící do rostlinného systému, mezi vyšší houby (*fungi*). [3] Mikroorganismy zahrnované mezi kvasinky lze charakterizovat tím, že jde většinou o jednobuněčné organismy rozmnožující se převážně pučením a zpracovávající zdroj uhlíku obvykle kvašením. Existují však výjimky, které mohou za určitých podmínek vytvářet mycelia, pak mohou tedy existovat i ve vícebuněčné formě. [2]

Kvasinky potřebují pro svoji existenci vodné prostředí, přítomnost kyslíku a živin. Zpravidla mají vysoký nárok na vodní aktivitu, jen pár kvasinek toleruje zvýšený osmotický tlak v prostředí. V tekutém živném prostředí se při statické kultivaci pomnožování většiny kvasinek projevuje jako zákal. Poté se kvasinky shlukují a usazují na dně nádoby ve formě pevného či práškovitého sedimentu, přičemž se tekutina postupně čerí. [2]

Dostupnost kyslíku je nezbytná pro pomnožení všech kvasinek, není žádná striktně anaerobní kvasinka. Většina kvasinek patří mezi fakultativně anaerobní, přičemž při anaerobní kultivaci jsou vyžadována alespoň stopová množství kyslíku. Řadíme sem například *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* a rod *Brettanomyces*. Fermentativní typy kvasinek i v aerobních podmínkách převážně fermentují, respirace při kultivaci na glukose představuje pouze asi 10 % uhlíkatého metabolismu, při kultivaci na jiných cukrech se podíl respirace zvyšuje. Do druhé skupiny se řadí respirativní typy kvasinek, pro které je energeticky výhodnější respirace než fermentace. Obligátní aeroby neobsahují enzym alkoholdehydrogenasu vůbec, tudíž nedokáží produkovat ethanol. Příkladem mohou být například *Rhodotoruila*, *Saccharomycopsis*, *Cryptococcus* nebo *Lipomyces*. [2]

Podle nároků na teplotu prostředí kvasinky dělíme na psychrofilní, mezofilní a termofilní. Psychrofilní kvasinky se pomnožují při teplotách -2 až maximálně 20 °C. Naprostá většina kvasinek náleží do mezofilní kultury, rostou při teplotách 0 až 48 °C, v laboratorních podmínkách se běžně kultivují při teplotách 25 až 30 °C. Termofilní kvasinky se množí minimálně při 20 °C a výše, ty však většinou představují potenciální patogeny pro člověka. Maximální teplota, při které jsou kvasinky ještě schopné přežít, je 57 až 59 °C. [2]

3.1 Morfologie kvasinek a způsoby rozmnožování

Morfologie kvasinek se zabývá studiem tvaru a povrchu celých mikroorganismů. Tvar buněk kvasinek závisí na kultivačních podmínkách, rodové příslušnosti a hlavně na způsobu rozmnožování. Buňky obvykle dosahují rozměru 3 až 15 μm . [2] Nejčastěji je tvar krátce elipsoidní, případně vejčitý až kulovitý. Některé rody tvoří dlouze protáhlé buňky, vyskytuje se však i tvar citrónkovitý, např. u kvasinky *Kloeckera apiculata*, cylindrický u rodu *Schizosaccharomyces* či trojúhelníkovitý tvar u rodu *Trigonopsis*. [3]

Pro většinu kvasinek je typické rozmnožování pučením, kdy se na mateřské buňce vytvoří pupen, postupem času se pupen zvětšuje, dochází k fragmentaci všech buněčných organel v buňce, z nichž část putuje do pupenu. Zúženina mezi mateřskou buňkou a pupenem se postupně uzavírá, až dojde k oddělení. Podle místa, kde pupen vzniká, rozlišujeme monopolární, bipolární a multipolární pučení. U monopolárních kvasinek dochází ke zrodu vždy na stejném místě. Bipolární kvasinky, označované též jako apikulátní, střídavě pučí na obou pólech. Vzhled buněk bývá citrónkovitý. Některé apikulátní kvasinky pučí na široké základně, kdy je mateřská buňka s pupenem spojena širokým krčkem. U multipolárně pučících kvasinek pupen vzniká kdekoliv na povrchu buňky, avšak nikdy na stejném místě, tím je počet generací vznikajících ze stejné buňky prostorově omezen. [2]

Pokud nedojde při pučení na pólech k úplnému oddělení dceřiné buňky od mateřské, zůstávají obě buňky spojeny, a vytvoří tak pseudomycelium. [2] Tvorba pseudomycelia bývá obvykle indukována za podmínek nedostatku živin. Pseudomycelium vytvářejí kvasinky rodů *Candida*, *Trichosporon* i další. [2]

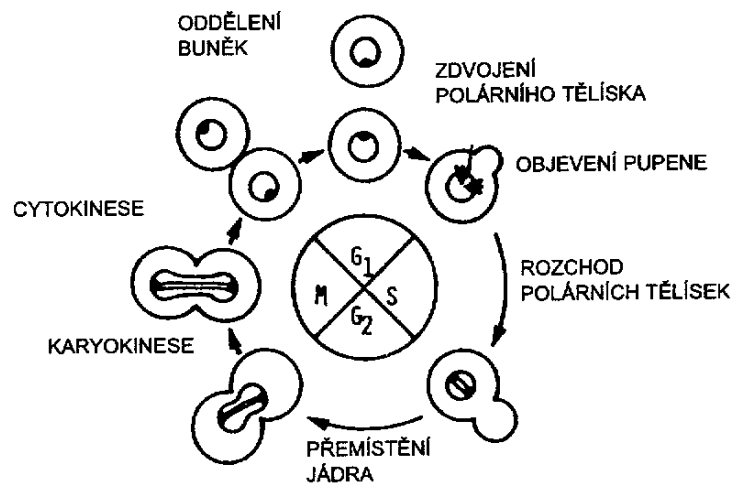
3.1.1 Rozmnožování kvasinek

V obvyklých vinifikačních podmínkách se kvasinky rozmnožují pučením. Tento děj se může konat asi sedmkrát, přičemž na povrchu kvasinky zůstávají jizvy, které snižují intenzitu látkové výměny. Proto mají starší buňky kvasinek s četnými jizvami nižší kvasnou výkonnost. [35]

3.1.1.1 Vegetativní rozmnožování

Většina rodů kvasinek se vegetativně rozmnožuje pučením. [3] Na povrchu buňky se vytvoří výrůstek, do něhož mateřská buňka vysílá organely a rozdělené jádro. Po dosažení určité velikosti se pupen oddělí od mateřské buňky. [17] Celý cyklus buněčného dělení od

vzniku zřetelného drobného pupenu až po oddělení dceřiné buňky trvá za optimálních růstových podmínek kolem dvou hodin. [3]



Obrázek 3: Schéma buněčného cyklu *Saccharomyces cerevisiae* [2]

Klíčovým mezníkem buněčného cyklu je start, což je interval, ve kterém se rozhoduje o přechodu z přípravné fáze do fáze syntetické. Nachází-li se buňka v odlišných podmínkách, může pokračovat v alternativním programu. Haploidní buňky v médiu s dostatkem uhlíkatých a dusíkatých zdrojů a v přítomnosti sexuálního partnera zastavují BC ve fázi G₁ a zahajují konjugaci. Diploidní buňky v médiu bez zdroje dusíku a s nízkým zdrojem uhlíku rovněž zastavují BC ve fázi G₁ a zahajují sporulaci. Další možností je přechod do stacionární fáze, kdy BC sice pokračuje za nedostatku živin, ale vytváří se pseudomycelium. [2]

Pro úspěšný průchod Startem je vyžadováno, aby měla buňka určitou velikost. Není-li tomu tak, dochází u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* k prodloužení fáze přípravné. Jinak by docházelo ke vzniku stále menších buněk a postupně ke smrti kultury. [2]

U *Saccharomyces cerevisiae* je nejvýraznější morfologickou změnou zahájení růstu pupene. Směrem k rostoucímu pupenu jsou směřovány cytoplazmatické mikrotubuly, aktiniová políčka, sekreční váčky, objevují se zde specifické proteiny, které mají funkci při růstu pupene, i proteiny tvořící tzv. krčková filamenta uplatňující se při následné cytokinesi. [2] Dále dochází ke splývání membrán ER a následně k jeho dělení, k opakovanému dělení vakuol a ke změně tvaru mitochondrií v dlouze protáhlé. [3] Dochází tedy k výrazné polarizaci mnoha buněčných procesů. [2]

Po rozdělení jader se cytoplazmatická membrána uzavře, kanálek mezi mateřskou a dceřinou buňkou a v pupenu se intenzivně syntetizuje a rozšiřuje ER. Po vytvoření buněčné stěny mezi mateřskou a dceřinou buňkou, vzrůstu velikosti pupenu a spojení drobných vakuol v jednu vakuolu, je pučení ukončeno. [3]

3.1.1.2 Pohlavní rozmnožování

Jak již bylo zmíněno, k pohlavnímu rozmnožování kvasinek dochází při nedostatku živin se zdroji dusíku a uhlíku a také pokud je přítomen sexuální partner.

Pohlavního rozmnožování se zúčastňují kvasinky patřící do skupiny askomycety a basidiomycety. Za vhodných podmínek může dojít ke konjugaci haploidních buněk a vzniku haploidní zygoty, která se buď dále vegetativně rozmnožuje, nebo prodělá sporulaci spojenou s meiotickým dělením jádra a dává vznik opět haploidním buňkám. [2]

Při pohlavním rozmnožování jde o spájení (konjugaci) dvou haploidních buněk a spájení jejich jader (karyogamie) za vzniku diploidního jádra. Pak se diploidní jádro dělí meiózou ve čtyři haploidní jádra, která jsou buď základem pohlavních spor, nebo se dělí další mitózou a teprve pak vznikají spory. V životním cyklu kvasinek se tedy pravidelně střídá haploidní a diploidní fáze buněk. [3]

V laboratorních podmínkách se konjugace navozuje společnou kultivací buněk v médiu bohatém na zdroje dusíku a uhlíku. Vzniklé diploidní potomstvo se za těchto podmínek dále vegetativně množí. Při přenesení této kultury do prostředí chudého na živiny nastává sporulace buněk. Za těchto podmínek výživové limitace dochází ke sporulaci kultury, tedy k meiose a vzniku vřecka se sporami. Spory po uvolnění z vřeček klíčí v haploidní buňce, pokud byly přeneseny do příznivých výživových podmínek. [2]

4 KVASNÉ PROCESY VE VÍNĚ

Při kvašení se přeměňuje glukóza a fruktóza – při doslazování i sacharóza – na ethanol a oxid uhličitý. Přeměna prochází složitými procesy v buňkách vinných kvasinek pomocí jejich enzymů. Teoreticky by mělo ze 100 g glukózy vzniknout 51,11 g ethanolu a 48,89 g oxidu uhličitého. Ve skutečnosti je tento děj mnohem složitější, vzniká jen 47 až 48 g ethanolu a kromě CO₂ také například kvasný buket. [10]

Ačkoli spousta organismů je schopno fermentovat cukry, dělají tak jenom při nedostatku kyslíku. Vzhledem k toxické aktivitě dochází jen k částečné přeměně v konečné produkty fermentace, kyselinu mléčnou a ethanol. Fermentace je pro organismy neefektivní režim využití energie. Alkoholová fermentace převádí pouze cca 6 až 8 % energie z glukosy do snadno dostupné metabolické energie, do molekuly ATP, a spousta energetických zbytků se váže na konečný vedlejší produkt alkohol. [32]

Dva nejdůležitější organismy podílející se na vinném kvašení jsou *Saccharomyces cerevisiae* a *Leuconostos oenos*. Jejich činnosti fermentativního metabolismu jsou značně rozdílné, ale jsou atypické tím, že odolávají mírně vysoké ethanolové koncentraci.

Saccharomyces cerevisiae, se schopností rychle zaujmout dominantní pozici v hroznovém moštu za nedostatku kyslíku, se řadí mezi nejdůležitější organismy alkoholové fermentace – a to nejen díky alkoholové toleranci, ale také díky přednosti alkoholové fermentace nad fermentací malolaktickou. Ačkoli kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* disponuje také schopností anaerobní respirace, i přesto převážně fermentuje také za přítomnosti vzdušného kyslíku. Pravděpodobně obsahuje mechanismus, který je schopen rapidního rozptylu nebo exportu alkoholu ven z buňky. [33]

Leuconostoc oenos je méně adaptabilní v růstu než *Saccharomyces cerevisiae*. *L. oenos* roste typicky pomalu – a to až po dokončení alkoholové fermentace kvasinkou *Saccharomyces cerevisiae*. Účastní se malolaktické fermentace, která vytváří z vín nadměrně kyselých vína přijatelné chutě a může zvýšit mikrobiální stabilitu odstraněním zbytků fermentačních substrátů. [32]

4.1 Alkoholové kvašení

Kvašení hroznové šťávy ve výrobě vína je komplex mikrobiologických reakcí zahrnující sekvenční vývoj různých druhů kvasinek a bakterií mléčného kvašení. Mezi těmito organismy jsou pouze kvasinky primárně zodpovědné za alkoholové kvašení. Tradičně vyráběná vína procházejí procesem přirozené fermentace, kterou způsobuje vývoj kvasinek pocházejících z povrchu hroznů a vinných sklepů. [4] Kvasinky rodů *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Candida* a *Pichia* rostou v ranných fázích kvašení, ale nakonec vymřou, takže dominantní druh *Saccharomyces cerevisiae* kvašení dokončuje. [29]

4.1.1 Kvasinková mikroflóra v moštu

V závislosti na průběhu klimatických podmínek je složení kvasinek rozdílné a z vinic pochází jen 1 až 3 % žádoucích kvasinek. Většinou se jedná o 16 různých kmenů kvasinek, z nichž pouze pět může mošt prokvasit zcela. V četných výzkumech byl druh kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* jako pravá vinná kvasinka nalézán ve zřetelné menšině oproti silně zastoupeným apikulátním kvasinkám, které však ve zvýšené míře tvoří kyselinu octovou a její estery. Ve spontánních podmínkách se rozvíjejí nejdříve hlavně divoké kvasinky, jejichž podíl na počátku kvašení může činit 90 % i více. Teprve asi od 4 % obj. alkoholu mají převahu pravé vinné kvasinky, které nakonec dosáhnou průměrně 95 až 98 % podílu. [35]

Podle kvasného výkonu a vzhledu se rozlišují kvasinky dobře kvasící, slabě kvasící, tříslotvorné a ojedinele se vyskytující kvasinky. Velmi dobře kvasící kvasinky tvoří hodně alkoholu a mnoho pozitivních vedlejších produktů. Do této skupiny spadá druh kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, tyto kvasinky jsou často označovány za pravé neboli ušlechtilé vinné kvasinky a na počátku kvašení jsou zastoupeny jen v nepatrném množství. Slabě kvasící kvasinky se označují jako divoké kvasinky. Zpočátku jsou mnohonásobně četnější než pravé kvasinky. Tyto divoké kvasinky zahajují kvasný proces. Hlavními zástupci jsou *Kloeckera apiculata* (odsud označení apikulátní kvasinky), *Candida* a druhy *Metschnikowia* aj. Tolerance divokých kvasinek alkoholu je nižší. Vedlejšími produkty těchto divokých kvasinek je glycerol a kyselina octová. Tříslotvorné kvasinky se často množí v přítomnosti kyslíku na hladině vín, u kterých je obsah alkoholu nižší než 11 % obj., a působí negativně. [35]

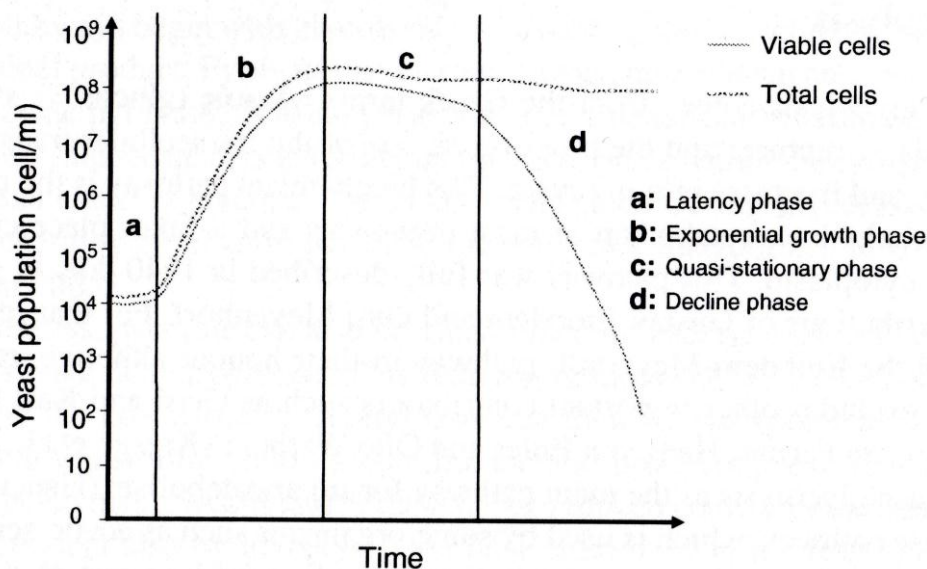
4.1.2 Růst kvasinek v různých fázích kvašení

Víno je většinou fermentováno procesem „batch“ fermentace. To znamená, že živiny jsou v maximální hodnotě na začátku fermentace, poté postupně klesají. Na konci fermentace je většina cukrů metabolizována a vzniká suché víno. Díky „batch“ fermentaci můžeme popsat schéma růstu kvasinek sestávajícího ze 4 fází: lag-, log-, stacionární-, a fáze poklesu.

V lag fázi jsou buňky inokulovány do nového prostředí, kde se musejí ihned adaptovat na nové prostředí. Počet buněk, které se úspěšně neadaptují v počáteční periodě, aproximuje počet zemřelých buněk. Buňky kvasinek, které přežily lag fázi, se posléze začínají množit ustálenou rychlostí, dokud nedojde ke zhoršení podmínek pro jejich růst. Protože mnoho mikrobů je jednobuněčných, růstová křivka aproximuje exponenciální rovnicí a tato fáze se nazývá exponenciální nebo také log fáze (logaritmická). Během této periody se populace životaschopných buněk rychle zvyšuje na maximální hodnotu a začíná proces fermentace.

Při „batch“ podmínkách obsah živin klesá a narůstá metabolismus toxického vedlejšího produktu. Po periodě rapidního růstu tempo růstu přechází do konstantní hodnoty, kvasinky se tedy nacházejí ve stacionární fázi až do doby, kdy růst začne klesat a hrozí smrt buněk. Stav živin se stále zhoršuje, mnoho buněk namísto dělení zahyne. V tomto stupni kultura vchází do klesající fáze. Protože většina životaschopných buněk není nahrazena, kolonie nakonec zanikne nebo se stane nečinnou. [32]

V hroznové šťávě je lag fáze typicky krátká, někdy až nedetekovatelná. Exponenciální růstová fáze je relativně krátká, zřídka dochází k více než 8 dělením. Stacionární fáze může být také krátká, nebo může zahájit dlouhou fázi limitovanou nedostatkem živin. Klesající fáze je atypická dlouhým obdobím. Zbytky životaschopných buněk přežívají po několik měsíců. Během klesající fáze je 40 % cukru metabolizováno na alkohol. [33]



Obrázek 4: Schéma růstového cyklu kvasinek [4]

4.1.3 Populace kmenů kvasinek přirozené mikroflóry během fermentace vína

Nejvyšší podíl kvasinek pochází z povrchu bobulí. Kvasinky se rozmnožují v místech jemných prasklinek a ran, kde mají přístup ke šťávě. Na jedné bobuli se nachází asi 8 milionů buněk, na popraskaných bobulích je toto číslo téměř 40-krát vyšší. Druhým místem výskytu kvasinek je půda, kam se dostávají z hroznů prostřednictvím deště. A v neposlední řadě sem patří i nástroje a pomůcky používané během lisování. [35] [4]

Kvasinky přirozeně se vyskytující na povrchu hroznů se označují jako přirozená mikroflóra vinného moštu. Během celého kvašení je zastoupení kvasinek proměnlivé. Na počátku kvasného procesu stojí divoké kvasinky, které proces kvašení zahájí a zkvašují mošt, dokud je jeho hodnota objemu alkoholu nižší než 4 % obj. Poté na řadu přicházejí kvasinky pravé, které mají mnohem vyšší toleranci k alkoholu. Následující tabulka popisuje zastoupení kvasinek přirozené mikroflóry kvasinek v moštu během kvašení. Mikrobiologický proces fermentace moštu je předmětem mnoha studií a je známa variabilita populace vinných kvasinek. Ovšem je obtížné odlišit různé kmeny *Saccharomyces cerevisiae*, proto specifická variabilita tohoto druhu je tedy stále neznámá. Pro charakterizaci kvasinkových kmenů byly použity molekulární metody zahrnující analýzy DNA sekvenčního polymorfismu, vzory chromozomálních DNA a restrikční vzory. [30] [31]

Počátek kvašení	Hlavní kvašení	Dokvašení
<i>Kloeckera apiculata</i> *	<i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>subspec. cerevisiae</i> *	<i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>subspec. cerevisiae</i> *
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> *	<i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>subspec. uvarum</i> *	<i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>subspec. bayanus</i>
<i>Candida stellata</i>	<i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>subspec. bayanus</i>	
<i>Kloeckera corticis</i>	<i>Sacch. chevalieri</i>	
<i>Candida krusei</i>	<i>Torulasporea delbrueckii</i>	
<i>Candida vini</i>	<i>Zygosacch. florentinus</i>	
<i>Hansenula anomala</i>	<i>Zygosacch. rouxii</i>	
<i>Hansenula subpelliculosa</i>	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>	
<i>Pichia mermentans</i>		
<i>Pichia membranaefaciens</i>		

* nejběžnější druhy kvasinek

Tabulka 2: Přirozená mikroflóra kvasinek v moštu během kvašení [4]

4.1.4 Faktory ovlivňující kvašení vína

Teplota představuje naprosto nejdůležitější faktor kvašení. Kromě průběhu kvašení ovlivňuje také obsah alkoholu i aromatický a chuťový projev vína. Teplota kvašení značně závisí na požadovaném typu vína, ať už se jedná o víno bílé, růžové, červené, aromatické či méně aromatické. Větší odchylky od optimální teploty brzdí látkovou výměnu kvasinek. Rovněž příliš rychlá změna teplot vyvolává stres kvasinek, a proto by neměla překročit více než 4 °C za hodinu. Při příliš rychlém poklesu teploty nastává snížení enzymatické činnosti. Prostřednictvím teploty tedy dochází k selekci kvasinek.

V posledních letech došlo ke snížení hodnoty teplotní meze téměř o 5 °C. Teplota se udržuje při cca 22 až 23 °C, nejlépe však při 20 °C. Pojem studené kvašení se vztahuje k teplotnímu rozsahu 12 až 15 °C a je zapotřebí chladnomilných kultur. Takto vykvašená vína mají bohaté aroma, protože aromatické látky ve větší míře zůstávají ve víně a neodpařují se. Čím teplejší bude kvašení, tím více aroma a alkoholu se ztratí, ale tím spolehlivěji kvasinky mošt prokvasí. Vína kvasící při vyšší teplotě připomínají spíše aroma tropického ovoce, ovocné bonbóny, estery. V závislosti na teplotě vytvářejí kvasinky rozdílné vedlejší

produkty. Při nižších teplotách se tvoří spíše ethylové estery, u vyšších více estery kyseliny octové. [35] [5] [6]

Při vyšších teplotách kvašení (nad 23 °C)

Vyšší obsahy glycerolu, zkvasitelných cukrů, zbytkového extraktu, kyseliny mléčné, kyseliny pyrohroznové, kyseliny ketoglutarové, vázaného oxidu siřičitého, 2-fenyletanolu, 1-propanolu, isobutanolu, isoamylalkoholu, octanu etylnatého, mléčnanu etylnatého.

Při nižších teplotách kvašení (pod 23 °C)

Vyšší obsahy celkového alkoholu, veškerých kyselin, kyseliny jablečné, acetaldehydu, veškerých polyfenolů, veškerých esterů.

Tabulka 3: Produkty vytvářející se při rozdílných teplotách kvašení [35]

Koncentrace cukrů během fermentace je dalším významným faktorem. Mošty s nižší koncentrací kvasí podstatně lehčeji než při vyšší koncentraci. S vysokým procentem cukrů se setkáváme u vín typu: výběr z bobulí, výběr z cibéb, slámového a ledového. Kvašení lze zlepšit doplňkovou výživou kvasinek. [5] K přímému měření úbytku cukrů během fermentace slouží biosenzor, který reaguje na glukózu a fruktózu. Dalším možným měřením koncentrace cukrů v moštu je sledování tlaku kapaliny neboli hustoty. [6]

Obsah alkoholu obvykle snižuje schopnost rozmnožování kvasinek potažmo dynamiku kvašení. Divoké kvasinky přežívají obvykle do 4 % obj. alkoholu v moštu. Posléze jejich aktivitu přebírají ušlechtilé kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces bayanus*, které jsou schopné se v moštu rozmnožovat do cca 12 až 13 % obj. alkoholu v moštu. Při ještě vyšších koncentracích alkoholu se rozmnožuje už jen rod kvasinek *Saccharomyces bayanus* – a to do 15 až 16 % obj. [5]

Použitím oxidu siřičitého se brzdí rozmnožování kvasinek, ovšem teprve v množství od 50 mg na litr. Především se tak potlačí divoké kvasinky a množství bakterií, ale kvasinky rodu *Saccharomyces* poškozují málo. Tím je ovlivněn počátek kvašení, nikoli jeho další průběh. [35]

Ve vinařské praxi je známo, že neodkalené mošty kvasí podstatně snadněji, rychleji a intenzivněji než mošty odkalené. [5] Odkalené mošty mají vyšší alkohol a aroma, ale při velmi pomalém kvašení rovněž stoupá obsah acetaldehydu. [35]

Během svého rozmnožování potřebuje kvasinka určité množství kyslíku pro stavbu buněčné membrány. Jestliže je kyslíku nedostatek, kvasinky se rozmnožují méně, mají horší stavbu a netvoří se jich dostatek pro plynulé prokvašení. [35] Okysličení kvasícího moštu na začátku fermentace není vhodné, neboť kyslík podporuje rozvoj ne-sacharomycetních kvasinek, které nejsou pro kvašení moštu vždy žádoucí. Dodání kyslíku na konci růstové fáze naopak podporuje dominanci vinných kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. [5]

Dusík tvoří součást aminokyselin, tím pádem i bílkovin a enzymů, které umožňují látkovou výměnu v buňce. Jeho nedostatek má za následek slabě kvasící kvasinky a může vést až k poruchám kvašení. [35]

4.1.5 Stres kvasinek v průběhu kvašení

Alkoholová fermentace je jedna z důležitých fází ve výrobě vína. Obvykle je prováděna kvasinkami, které patří k druhu *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentace mohou být modifikovány změnou složení média, vinného moštu, což je změna jeho teploty, provzdušnění atd., nebo mohou být fermentace modifikovány, pokud se modifikuje genom kvasinkové flóry, která provádí proces fermentace. [21] Pokud nedojde ke změně kvasinkové flóry, je daná flóra složena ze směsi divokých kmenů, které mohou, ale nemusí, po sobě následovat. [22] Tento proces fermentace může být mikrobiologicky zjednodušen a kontrolován, když se naočkuje modifikovaná čistá kultura do probíhající fermentace. [23] Tento postřeh otevírá cestu pro užití technik genetického inženýrství při modifikaci vinných kvasinek, a tudíž vlastností vyrobeného vína (aroma, chuť, ethanol atd.). [28]

Přežití buněk závisí na jejich schopnosti rychle se adaptovat měnícím se podmínkám. V případě celulárních organismů je tato schopnost obzvláště důležitá, protože musí velmi často reagovat na nové podmínky. Jakýkoliv faktor z prostředí, který by mohl mít neblahý důsledek na růst buňky, je považován za původce stresu. Existuje několik druhů původců stresu, které mohou ovlivnit kvasinky během výroby vína a během průmyslové přípravy kvasinek, které mají být naočkovány do moštu. [24] Teplotní šok jako jeden z původců stresu je dlouhodobě studován na laboratorních kvasinkových kmenech. I když tento stresor obvykle nebývá během fermentace přítomen – a není v průběhu zjištěn systém na kontrolu teploty – supraoptimální teploty se mohou vyskytnout během výroby biomasy a

procesu vysušování kvasinek, které jsou vyžadovány pro průmyslovou přípravu vinných kvasinek. [28]

Stejně tak jako teplotní stres se může během výroby biomasy a vysušování kvasinek objevit oxidační stres.

Hyperosmóza je také důležitým stresovým faktorem pro vinné kvasinky. Vysoký obsah cukrů v moštu produkuje osmotický stres v kvasinkových buňkách, kterému musí odolat, aby proběhla fermentace. Navíc by se mohl osmotický stres objevit také během výroby biomasy, vysušování a následného zpracování. Množství dusíku, které je kvasinkám k dispozici a je schopno se asimilovat, závisí na jeho zdrojích, které jsou přítomny v každém určitém moštu a také na ethanolové koncentraci, která negativně ovlivňuje vstřebávání dusíku. [25] Zvýšení ethanolové koncentrace a postupné využití zdrojů dusíku kvasinkami během fermentace může způsobit absenci dusíku. [28]

Během růstu kvasinek v moštu je většina přítomných hexóz zkonsumována, tudíž dalším důležitým stresorem je ke konci procesu fermentace absence cukru. Na konci procesu fermentace je vyprodukováno zvýšené množství ethanolu a kvasinky si vytvoří obranný mechanismus proti toxicitě ethanolu. Nedávno se ukázalo, že ethanol vyvolává v kvasinkách také vodní stres. [26]

Kvasinkové buňky ve srovnání s jinými živými organismy vnímají stres a reagují na něj. Buněčný aparát na kontrolu stresorů zahrnuje rapidní syntézu ochranných molekul a aktivaci systémů signální transdukce, které vyvolávají druhotné procesy jako aktivaci již dříve existujících enzymových činností a přepis faktorů genového kódování; tyto faktory mají ochranné funkce. [27] Regulace reakce na stres zahrnuje mechanismy transkripce, translace a post-translace, které jsou velmi příznačné pro případ teplotního šoku. V kvasinkách jsou stresem aktivovány alespoň tři pozitivní transkripční elementy. [28]

4.1.6 Biochemie alkoholového kvašení

Mošt z hroznů révy vinné obsahuje dva nejvýznamnější cukry, glukózu a fruktózu, přičemž vinné kvasinky tyto dva cukry velmi dobře zpracovávají. V průběhu kvašení potom rychleji využívají glukózu a pomaleji fruktózu. Sacharóza přidávaná během doslazování je rovněž metabolizována kvasinkami. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* mají tu schopnost rozštěpit esterickou vazbu sacharózy, čímž vzniká glukóza a fruktóza. Případný zbytkový cukr ve víně je představován právě jako fruktóza, která působí sladším dojmem. [5]

Glukóza a fruktóza je metabolizována na ethanol především glykolýzou. Vedle primárního vedlejšího produktu alkoholu kvasinky dále metabolizují většinu volných aromatických sloučenin nacházejících se ve víně. Činnost kvasinek může mít také vliv na rozvoj odrůdového aroma – a to díky hydrolýze netěkavých prekurzorů aromat, tím dochází k potenciálnímu uvolňování aromatických terpenů, fenolů a norisoprenoidů. [34]

Navíc změnou chemicko-fyzikálních vlastností během fermentace se postupně upravuje metabolismus kvasinek. To odráží různé fáze růstu kolonií související s úpravou živin, energetického postavení buňky a látek uvolňovaných a přijímaných během celé doby fermentace. Mnoho vonných složek vína může být tedy produkováno díky modifikacím primárních i zprostředkovatelských mechanismů buněk kvasinek. [32]

4.2 Malolaktická fermentace

Malolaktická fermentace (MLF) neboli jablečno-mléčné kvašení je druhotná fermentace, která se obvykle objevuje na konci alkoholové fermentace prováděné kvasinkami, i když se někdy může objevit již dříve. Jde v podstatě o biologický proces vinného odkyselování, ve kterém je malát (odvozen od dikarboxylové L-jablečné kyseliny) přetvářen na laktát a oxid uhličitý. [19] Odkyselování je především žádoucí pro regiony s chladným klimatem (např. Nový Zéland, Kanada), kde se produkuje víno s vysokou kyselostí. Tento proces je obvykle prováděn bakteriemi mléčného kvašení (BMK), což jsou například kmeny *Oenococcus oeni*, *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus* či *Pediococcus*. *Oenococcus oeni* je preferovaným druhem, jenž se používá k malolaktickému kvašení – a to díky své odolnosti vůči kyselosti a chuti, kterou vínu dává.

Znalosti ohledně metabolismu BMK ve víně jsou potřebné, abychom vyhodnotili vliv MLF na kvalitu vína. Dnes se má za to, že MLF je mnohem více než jenom odkyselovací proces, přestože odkyselování skrz MLF je stále primárním cílem ve vinném kvašení v oblastech s chladným klimatem. Komplexnost a rozmanitost metabolické aktivity BMK napovídají, že MLF může ovlivnit kvalitu vína jak pozitivně, tak negativně. [18]

4.2.1 Vliv biogenních aminů

Biogenní aminy (BA) jsou rozmanitou skupinou substancí, které se vyskytují nejen ve víně. Mohou způsobovat nesnášenlivé projevy – a to podle individuální citlivosti konzumenta, na základě aktivity *aminooxidázy* střevní sliznice a jater. Hlavní důvodem jejich vzniku je dekarboxylace aminokyselin. Dále se mohou tvořit cestou aminace aldehydů a ketonů *transaminázami* a enzymatickým odbouráváním jiných substancí obsahujících dusík. Zvláštní význam přitom náleží hodnotě pH. Nad 3,6 jsou podporovány bakteriální přeměny. [8]

Neznámější biogenní amin histamin se tvoří z aminokyseliny histidin. Histamin není ve víně obsažen primárně, ale vzniká až při MLF fermentaci, při odbourávání kyselin. Při špatném průběhu MLF jsou totiž přítomny pediokoky, které způsobují vyšší produkci BA. Důvodem je hlavně špatná hygiena ve výrobě a nahnilé hrozny. Při použití startovacích kultur bakterií, selektované *Oenococcus oeni*, nebylo zjištěno žádné zvýšení BA ve víně.

I když množství BA ve víně je poměrně nízké ve srovnání s jinými fermentovanými potravinami, např. plísňový sýr obsahuje až stonásobný obsah BA, studium těchto sloučenin ve

víně je obzvláště důležité, protože nejen ethanol, ale i produkt jeho odbourávání – acetaldehyd – může zvýšit jejich toxické účinky na lidský metabolismus tím, že zabrání *aminoxidáze* v odbourávání biogenních aminů. [40] Tím jsou biogenní aminy déle zadržovány v těle, než dojde k jejich odbourání. Mezi nejdůležitější symptomy biogenních aminů patří bolesti hlavy, nevolnost, zvracení, průjem, oční tlak, slabost krevního oběhu, dušnost, nucení ke kašli, svědění.

Vzniku BA se dá zabránit nebo jejich rozvoj minimalizovat – a to díky použití zdravých hroznů, dodržování striktní hygieny, zamezení vzrůstu pH nad hodnotu 3,6. Výhodné je též použití startovacích bakterií pro MLF, aby se zabránilo činnosti negativních pediokoků a laktobacilů. Pokud již BA ve víně máme, dá se jeho obsah snížit přidávkem bentonitu. [8]

5 KVAŠENÍ SPONTÁNNÍ A ŘÍZENÉ

Alkoholové kvašení moštů je základem technologie výroby vína. Jedná se o nejdůležitější biochemický proces při výrobě vína, který vyžaduje důslednou kontrolu jeho průběhu. Ve vinařské praxi rozlišujeme dva typy prokvašení moštů, spontánní a řízené kvašení. [5]

5.1 Spontánní kvašení

Pod tímto pojmem se rozumí prosazení pouze těch kvasinek, které se přirozeně vyskytují na hroznech ve vinicích a s nimi jsou také přivezeny do sklepa. Jedná se o kvasinky divoké neboli přirozené. Nepřidávají se žádné další přísady čistých kultur kvasinek. [6] Vína vyrobená touto technologií vyžadují delší čas na výrobu, aby kvalitně uzrála. Zároveň se při něm vytváří komplexní spektrum aromatických látek. Velmi pozitivní je v takto vyrobených vínech vyšší hodnota bezcukerného extraktu. [5]

Výskyt kvasinek na hroznech je ovlivněn mnoha faktory, jako jsou počasí, odrůda, doba sklizně, poškození postřiky, hmyz. Počet kvasinek na povrchu bobulí se pohybuje v rozmezí od nuly po cca 2 miliony na cm^2 . Čím jsou hrozny vyzrálejší, tím dříve dochází k výtoku moštu na povrch bobule skrz praskliny, a ten tvoří základní substrát pro rozmnožování kvasinkové mikroflóry. Znamená to, že množství kvasinek potřebných ke kvašení může být kompletně k dispozici, ale také mohou zcela chybět. [6] Výroba vína technologií spontánního kvašení je proto určena pouze pro dokonale vyzrálé hrozny.

Nejvhodnější je sklizeň hroznů při nižší teplotě pro uchování stávající mikroflóry. Vybírají se hrozny dostatečně prozřálé a zdravé. Následuje šetrné odstopkování, drcení a lisování za tlaků nižších než u inukolovaných vín. Teplota moštu určeného pro spontánní kvašení by se měla pohybovat při $15\text{ }^\circ\text{C}$ a neměla by přesáhnout $18\text{ }^\circ\text{C}$ – a to i během fermentace.

Aplikace oxidu siřičitého je významná zejména z důvodu minimalizace populace bakterií. Je-li surovina zdravá, množství dávkování SO_2 by mělo být nižší, nebo dokonce nemusí být přidáván vůbec. Důvod aplikace SO_2 je oddálení nástupu spontánní činnosti kvasinek.

Odkalení moštu se neprování důsledně, je výhodou ponechat v moštu jemný kal, protože ten právě obsahuje divoké kvasinky i kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. [5] Schéma růstu přirozené mikroflóry je detailně popsáno v předešlé kapitole. Proces fermentace začínají divoké kvasinky, které jsou schopny metabolizovat cukry na alkohol, dokud obsah alkoholu nestoupne nad 4 % obj. alkoholu v moštu. Posléze se začne ve značné míře projevat pravá kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, která je tolerantnější k obsahu alkoholu

v médiu a spolu s kvasinkou *Saccharomyces bayanus* dokončují kvašení. Kvasinka *Saccharomyces bayanus* je schopná fermentovat dokonce i při 15 až 16 % obj. alkoholu v moštu.

Kvašení může trvat podstatně delší dobu než u moštů prokvašených čistou kulturou. Ale pokud maximálně do dvou týdnů od teoretického počátku kvašení mošt nefermentuje, je třeba aplikovat ASVK (aktivní suché vinné kvasinky), čímž dochází k technologické změně; takové víno již nelze označovat jako produkt spontánního kvašení.

Aromatický a chuťový vývoj spontánně vyrobených vín je delší než u vín řízeného kvašení. Vína jsou ideální ke konzumaci teprve až v březnu či dokonce v květnu. Aromaticky jsou velice výrazná, odrůdově typická a chuťově plná, což způsobuje vyšší hodnota bezcukerného extraktu a vyšší obsah glycerolu. [5]

druh	podíl v %
<i>Candida edax</i>	17,6
<i>Rhodotorula spp.</i>	15,2
<i>Bulleromyces albus</i>	10,3
<i>Cryptococcus spp.</i>	8,3
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	7,8
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1,5
<i>Pichia spp.</i>	1,5
<i>Schizosaccharomyces spp.</i>	1,5
ostatní	19,2
<i>Aureobasidium pullulans</i>	17,2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	často pod 1 !

Tabulka 4: Nejčastěji se vyskytující spontánní kvasinky [35]

5.2 Řízené kvašení

Pod termínem řízené kvašení se skrývá aplikace čistých kvasinek či ASVK do moštu. Každý výrobce vína má dnes velké možnosti při výběru typu ASVK od producentů, kteří nabízejí přes 100 druhů preparátů kvasinek selektovaných podle požadavků na charakter vína. [5]

Hrozny se při přepravě chladí suchým ledem, následná macerace u vybraných druhů taktéž probíhá za chladných podmínek, tzv. kryomacerace. Při udržování nízké teploty se získá vyšší procento aromatických látek vína. Mošty se následně odkalují buďto sedimentací nebo flokulací – a to velmi pečlivě. Do odkaleného moštu se inokulují čisté kvasinky určené pro daný charakter vína. Při kvašení moštů ve velkých objemech může dojít ke zvýšení teploty nad 20 °C. To má za následek rychlý průběh kvašení, přičemž uniká i velký objem aromatických složek. Vína jsou pak charakterově nezajímavá a prázdná. [9]

Díky přidavku ASVK dochází k snadnějšímu řízení kvašení obzvláště u ne zcela zdravého moštu. Vytváří se velké procento alkoholu a minimum vedlejších produktů fermentace. Kvasniční kaly inokulované kultury se poměrně snadno usazují, protože se tvoří látky ztěžující filtraci, jako jsou mannany a glukany. [35] Přídavek selektovaných sušených kvasinek je vhodný i proto, že v moštu je hned zpočátku dostatečné množství kvasničných buněk, a tím se zvyšuje pravděpodobnost, že se celý kvasný proces vyvine bez potíží a správným směrem. Je to zvláště důležité u moštů z nahnilých hroznů nebo u moštů s vysokým obsahem cukrů. Mezi selektovanými sušenými kvasinkami je široká škála kmenů s odlišnými vlastnostmi. [10]

Teplota moštu před začátkem kvašení by se měla pohybovat mezi 15 až 18 °C a během kvašení okolo 20 °C až 22 °C. Optimální teploty pro alkoholové kvašení by neměly v žádném případě přesáhnout teplotní limit. Vysoká teplota podporuje nástup MLF – a to zvláště u bílých vín není vhodné. U moštů prokvašených „do sucha“, tzn. vznik vína bez obsahu zbytkového cukru, se téměř nevyskytují mikrobiální problémy. U sladkých vín zůstává vysoký obsah zbytkového cukru, jež může působit jako substrát pro mikroorganismy, proto je nutné takové víno sterilizovat, a tím potlačit bakterie i kvasinky. [5]

V dnešní době je v nabídce několik desítek až set druhů preparátů kvasinek, které se liší v závislosti na selektivitě vína. Existují např. kvasinky pro studené kvašení, kvasinky pro mošty s vyšší cukernatostí, aromové kvasinky, sektové kvasinky, odrůdové kvasinky, kva-

synky pro červená vína, kvasinky produkující glycerol, kvasinky neovlivňující kyseliny nebo kvasinky se silným sklonem k autolýze.

6 VLIV KVASINEK NA KVALITU VÍNA

Rozhodující vliv na kvalitu vína má sběr hroznů v optimální technologické zralosti, ta určuje vhodný obsah cukrů, kyselin, pH i aromatickou a fenolickou zralost. Technologická zralost se liší s typem vína, pro vína lehká je vhodná jiná technologická zralost než pro vína těžká. [5] Pro dosažení optimální zralosti hroznů je důležitý i výběr místa vinice. Místo charakterizuje teplota, světlo, vodní srážky, vzdušné proudy, nadmořská výška, reliéf krajiny a složení půdy. O této problematice se zmiňoval i první český odborný spis o vinařství s názvem „Vinice v jakém položení má býtí“. [9]

6.1 Vliv produktů fermentace na charakter vína

Kromě alkoholu a oxidu uhličitého se při kvašení vytváří také velký počet primárních a sekundárních metabolitů. Pod pojmem primární vedlejší produkty rozumíme meziprodukty alkoholového kvašení a následující etapu odbourávání cukrů v cyklu kyseliny citrónové. Mezi primární vedlejší produkty kvašení patří glycerol, kyselina pyrohroznová, acetaldehyd, kyselina octová, kyselina 2-ketoglutarová, kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina jantarová a kyselina citrónová. K sekundární vedlejší skupině patří hlavně sloučeniny, které se syntetizují z produktů odbourávání cukrů při kvašení, jakož i látek, které nemají žádný přímý vztah k látkové výměně kvasinek. Sekundárními vedlejšími produkty kvašení jsou 2,3-butandiol, acetoin, diacetyl, vyšší alkoholy, estery, aldehydy, ketony, kyselina galaktouronová a methanol. Tyto chemické látky patřící do skupin primárních a sekundárních vedlejších produktů při kvašení mohou kvalitu vína ovlivnit v závislosti na svých koncentracích kladně nebo záporně. [5] [8]

Glycerol přispívá k nasládlé chuti a víno působí kulatě, tzv. víno plné, a je vytvářen především slabě kvasícími divokými kvasinkami. Spontánně kvašené víno tedy oplývá plnou chutí více než víno očkované. Některé selektované kmeny kvasinek *Saccharomyces* dokáží tvořit také vyšší obsah glycerolu, avšak v dosavadních pokusech nevykázaly vždy ty nejlepší sensorické výsledky. [8] [35]

Kyselina octová patří mezi těkavé kyseliny a je ukazatelem zdravotního stavu vína. Některé kmeny *Saccharomyces cerevisiae* za nestandardních podmínek mohou tvořit kyselinu octovou, avšak jsou to právě divoké kvasinky, jejichž produkce octové kyseliny je několikanásobně vyšší. Na octělá vína mají co do vůně a chutě zvláštní škrablavý, pichlavý a kyselý charakter. [10] [8]

Kyselina pyrohroznová, acetaldehyd a kyselina 2-ketoglutarová jsou významné svou vaznou schopností na kyselinu siřičitou ve víně. Acetaldehyd je prekurzorem ethanolu při kvašení vína, v průběhu se jeho koncentrace v rozkvašeném moštu snižuje. Tím, že patří mezi vazné partnery pro SO₂, je jeho tón překryt. Mnohé z aldehydů obsažených ve víně lze spojovat s projevem aroma, nicméně většina z nich je neutralizována slučováním s oxidem siřičitým. Nejznámější je vanilin, který se do vína dostává díky ležení v dubovém sudu barrique. Volný acetaldehyd narušuje chuťový obraz vína. Co se týče vůně a chuti jsou taková vína většinou odmítána jako oxidativní a aldehydová. Spontánně kvašená vína obsahují větší množství acetaldehydu, proto mají větší spotřebu oxidu uhličitého. Nejznámější je vanilin, který se do vína dostává díky ležení v dubovém sudu barrique. [8] [10]

Acetoin a diacetyl vznikají odbouráváním kyselin činností mléčných bakterií. Tyto komponenty vnášejí do vína tón chuti kyselého zelí. [8]

Vyšší alkoholy též označované jako přiboudliny mají výtečné vlastnosti, co se týče vůně a chuti, a díky tomu spolupůsobí při vyhranění aroma vína. Ovšem vyšší koncentrace vyšších alkoholů mohou ze sensorického hlediska působit až záporně a také mohou vést k bolesti hlavy po požití vína. Procento vyšších alkoholů ve víně je vyšší u spontánně kvašených vín než u vín inokulovaných čistou kulturou kvasinek. [8]

Estery jsou ve víně přítomny ve velkém počtu. Jako alkoholová komponenta slouží hlavně ethanol a vyšší alkoholy. Ty jsou esterifikovány kyselinou octovou. Při spontánním kvašení může vznikat díky divokým kvasinkám vyšší procento ethylesterů kyseliny octové. [8]

Tvorba esterů pomocí kvasinek v průběhu kvašení může mít významný vliv na vývoj ovocného aroma ve víně. Koncentrace esterů ve víně je ovlivněna druhem kvasinky a použitým kmenem kvasinek a závisí na rovnováze mezi syntézou a hydrolýzou esterů v průběhu kvašení i po něm. [37]

Těkavé sloučeniny	Popis aromatického projevu
etylpropanoát	ovocný
etyl 2-metylpropanoát	ovocný, sladké ovoce
ethylbutanoát	kyselé ovoce
etyl 3-metylbutanoát	bobuloviny
etylhexanoát	zelené jablko
etyllaktát	jahoda
etyloktanoát	sladké mýdlo
etyldekanoát	příjemné, mýdlové
etyldodekanoát	mýdlové
etylacetát	ovocný, odlakovač (ve vysoké koncentraci)
2-metylpropylacetát	banán, ovocný
2-metylbutylacetát	banán, ovocný
3-metylbutylacetát	banán
hexylacetát	sladký, parfém
2-fenyletylacetát	květinový

Tabulka 5: Významné estery vytvořené kvasinkami ve víně a jejich aromatické projevy [5]

Kyselinu mléčnou produkují bakterie mléčného kvašení z kyseliny jablečné za vzniku oxidu uhličitého. Chuť a vůně je nasládlá-nakyslá, škrablavá a připomíná kyselé zelí. [8] [10]

Rozpadem karotenových barviv, které se nacházejí ve slupce hroznu, vznikají aromatické deriváty. β -damascenon připomíná vůni růží a β -ionon vůni fialek. Důkazem pro zakázané umělé aromatizování vín je přítomnost syntetického α -iononu s vůní lučních květin. [10]

6.2 Čisté kultury kvasinek a jejich vliv na kvalitu vína

Otázkami selekce vhodných kmenů vinných kvasinek na základě jejich vlastností se zabýval již na konci 19. století Hermann Miller-Thurgau v Geisenheimu. Mezi kýžené vlastnosti patří rychlost kvašení, dobrá aktivita kvasinek během kvašení i dokvácení, tolerance k alkoholu, dobrá schopnost kvašení i při nižších teplotách, dobré kvasné aroma, nízká tvorba kyseliny octové a nízká tvorba sirnatých sloučenin. [5]

V dnešní době se setkáváme se speciálními kvasinkami pro studené kvašení, kvasinkami pro vyšší cukernatost, aromovými kvasinkami, sektovými kvasinkami, odrůdovými kvasinkami, kvasinkami pro červená vína, kvasinkami produkující glycerol, kvasinkami neovlivňující kyseliny nebo kvasinkami se silným sklonem k autolýze.

Kvasinky působící na aroma vína se rozdělují na kvasinky s přídatným kvasným aroma a na kvasinky s glykosidázovou enzymatickou aktivitou. [35]

Kvasinky s přídatným kvasným aroma neumějí produkovat pravé přírodní hroznové aroma, což jsou hlavně terpeny, ale podporují tvorbu esterových vazeb u kyseliny octové nebo ethanolu. Tyto sloučeniny jsou těkavé, a překrývají tak primární hroznové aroma. Toto aroma je často označováno jako esterová ovocnost nebo také kvasné aroma. Kvasné aroma je však časově nestálé a po třech letech je již nedokazatelné. [36] Tento typ vín je vhodný spíše pro rychlou spotřebu, protože při delším uložení mohou estery získat nepříjemný charakter.

Většina aromatických látek je vázána na cukry, a tím i stabilizována. Jestli se molekula cukru odštěpí, stane se aroma těkavým, a tím i sensoricky účinným. Štěpení cukrů může být způsobeno vlastními kyselinami nebo kvasinkami s glykosidázovou enzymatickou aktivitou, které jsou schopny štěpení cukerných zbytků díky svým enzymům. Dosáhne se rychlejšího uvolnění aroma, jehož tvorba by obvykle nastala až během ležení vína. Technika představuje časové zvýhodnění při vzniku aroma. Takto vykvašené mladé víno je pocíťováno pozitivně díky zvýrazněnému intenzivnímu aroma, ale někdy může být pokládáno až za příliš hlasité a netypické. [35]

U kvasinek tolerujících nižší teploty, tj. 12 – 15 °C se výrobce snaží zachovat ve víně více aromatických složek. Pro studeně kvašené vína je charakteristické aroma tropického ovoce, banánu či ananasu. Kvasinky pro vyšší cukernatost, jak již napovídá název, jsou určeny pro výrobu sladkých vín a také pro rozkvašení nedokvašených vín. Mezi nejvýznamnější sektové kvasinky řadíme *Saccharomyces bayanus*, protože má velkou toleranci k alkoholu a SO₂. Často je tato kvasinka užívána pro předčasné zastavení kvašení.

Odrůdové kvasinky se snaží podpořit odrůdu, ze které byl mošt vytvořen. Mají pozitivní vliv na celkové aroma vína. Kvasinky určené pro červená vína mají za úkol zachovat barvu vína. Kvasinky produkující glycerol přispívají k plnosti vína.

6.3 Srovnání technologie spontánního a řízeného kvašení

Spontánní kvašení nastává u vína, jež nebylo inokulováno čistou kulturou. Záleží tak především na tom, jaká sestava mikrobů vegetovala na hroznu, na zdravotním stavu hroznu, počasí a tedy i vyzrálosti. Spontánního kvašení by se měly účastnit převážně hrozny vyzrálé. Na hroznech dostatečně neprozrálých může být mikroflóra natolik nízká, že nemusí

dojít ke kvašení vůbec. V opačném případě může v přemíře obsahovat mikroby, které mohou víno znehodnotit. Při spontánním kvašení je nesmírně důležité dodržovat čistotu prostředí, zvláště pak při lisování, kde mohou vlivem nedokonalé hygieny přebývat mikroorganismy s minulého lisování.

Mošty inokulované, kdy požíváme techniku řízené fermentace, nejsou natolik náchylné jako mošty kvašené přirozenou mikroflórou. Z hroznů se nejdříve odstraní domorodé mikroorganismy a mošt se přeočkuje čistou kulturou, která je natolik dominantní, že se původní mikroflóra stává nečinnou. Tímto způsobem se mohou zpracovávat i mošty méně kvalitní. V dnešní době jsou desítky až stovky specifických kvasinek, které lze do moštu přidat, a tím co nejvíce zachovat povahu vína.

Protože se spontánního kvašení zúčastňují kvasinky divoké, které mají vyšší produkci glycerolu, má výsledné víno chuť kulatější neboli plnější. Divoké kvasinky produkují výraznější aroma, které je originální samo o sobě. Vína vyráběná řízenou technologií jsou méně ekonomicky náročná, nehrozí riziko znehodnocení vína, ale jejich aromatická a chuťová stránka může být o něco chudší než u vína spontánně kvašeného.

ZÁVĚR

Tato rešeršní práce pojednává o problematice kvašení vinného moštu. Byla popsána dynamika populace mikroflóry v moštu během různých fází kvašení a byly zde popsány také faktory ovlivňující kvasný proces, spolu s tím byly rozebrány i stresové situace kvasinek. Dále se zaměřuje na technologie výroby vín s použitím spontánního a řízeného kvašení.

Kvašení je složitý biochemický a mikrobiologický pochod, za který odpovídá řada mikroorganismů vegetujících na povrchu hroznu. Kvasinky takto se vyskytující na povrchu hroznu se nazývají divoké kvasinky. Ty spouštějí spontánní kvašení moštu a rozmnožují se jen do vytvoření 4 % obj. alkoholu. A protože nejsou tak tolerantní k alkoholu, jejich činnost ustupuje. Dominantní roli přebírá kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, která provádí hlavní kvašení – a to zhruba do 12 % obj. alkoholu v moštu, při dokvašení sladkých vín se též uplatňuje *Saccharomyces bayanus*. Vína vyrobená inokulovaným způsobem jsou vhodná pro méně zdravé hrozny. Původní mikroflóra se eliminuje a do moštu je nasazena nová čistá kultura, která zajistí regulovaný průběh kvašení s jistým výsledkem. V dnešní době je bohatý výběr z možných suchých kvasinek, tudíž si vinař může vybrat takové, které jsou nejvhodnější právě pro výrobu.

Po stránce chuťové a aromatické jsou vína spontánního kvašení vždy originální, nelze nikdy vytvořit sérii stejné kvality, aroma a chuti. Obecně jsou takto kvašená vína plnější chuti, aroma a celkového požitku. Zrají podstatně delší dobu, ale co je pro vinaře asi nejdůležitější, jsou ekonomicky náročnější, navíc není vždy zaručen správný výsledek kvašení. Je proto vhodné vybírat jen hrozny zcela zdravé a zároveň velmi vyzrálé, ve výrobě dodržovat úzkostlivou hygienu a zároveň i faktory kvašení, jako je hlavně teplota. U vín vyráběných řízenou cestou pomocí čistých kultur se nesetkáváme s většími problémy během výroby. Čistá kultura je schopna zajistit plynulý průběh kvašení za splnění všech daných podmínek. Výsledkem je kvalitní víno, jež má oproti spontánně kvašeným vínům menší zastoupení glycerolu, který vínu propůjčuje plnou chuť, a nižší obsah aromatických látek, které více metabolizují divoké kvasinky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MORENO-ARRIBAS, M., POLO, M. *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, 2009, 735 p. ISBN 978-0-387-74116-1.
- [2] JANDEROVÁ, B., BENDOVIÁ, O. *Úvod do biologie kvasinek*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1999, 108 s. ISBN 80-718-4990-1.
- [3] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [4] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A., KUTKOVÁ, M. *Atlas kvasinek a kvasinkových mikroorganismů*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1961, 344 s.
- [5] PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. 2. aktualizované a rozšířené vydání. Praha: Grada publishing, 2010, 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [6] STEIDL, R. *Po cestách ke špičkovému vínu*. V českém jazyce vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 64 s. ISBN 978-80-903201-8-5.
- [7] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4.
- [8] EDER, R. *Vady vína*. Vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 263 s. ISBN 80-903-2016-3.
- [9] KRAUS, V. *Nová encyklopedie českého a moravského vína 1. díl*. 2. vyd. Praha: Praga Mystica, 2005, 304 s. ISBN 80-86767-00-0.
- [10] KRAUS, V. *Nová encyklopedie českého a moravského vína 2. díl*. 2. vyd. Praha: Praga Mystica, 2008, 312 s. ISBN 978-808676709-3.
- [11] WILLEY, J. M., SHERWOOD, L., WOOLVERTON, C. J., PRESCOTT, L. M. *Prescott's microbiology*. 8. vyd. New York: McGraw-Hill, 2011, 1088 s. ISBN 00-773-5013-8.
- [12] HRABĚ, J., GÁL, R., BUŇKA, F., ROP, O., RŮŽIČKOVÁ, J. *Základy zbožíznalství potravin*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2011, 168 s. ISBN 978-80-7454-118-6.
- [13] HAMPL, B., a kol. *Přehled potravinářského a kvasného průmyslu*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1962, 454 s.
- [14] RANKINE, B. C. *The importance of yeasts in determining the composition and the quality of wines*. *Vitis*. 1968, 7, 22–49.

- [15] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. *Kvasinky*. 1. vyd. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatury, 1957, 344 s.
- [16] KOHOUT, F. *O víně*. Praha: Merkur, 1982. 220 s.
- [17] MIŠURCOVÁ, L. *Základy biologie*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010. 159 s. ISBN 978-80-7318-434-6.
- [18] LIU., S.-Q. *Malolactic fermentation in wine - beyond deacidification*. Journal of applied microbiology. 2002, 92, 589-601.
- [19] DAVIS, C. R., WIBOWO, D., ESCHENBRUCH, R., LEE, T. H., FLEET, G. H. *Practical implications of malolactic fermentation: a review*. American Journal of Enology and Viticulture. 1985, 36, 290–301
- [20] RAMOS, A., LOLKEMA, J. S., KONINGS, W. N., SANTOS, H. *Enzyme basis for pH regulation of citrate and pyruvate metabolism by *Leuconostoc oenos**. Applied and Environmental Mikrobiology. 1995, 61, 1303–1310.
- [21] RANKINE, B. C. *The importance of yeasts in determining the composition and the quality of wines*. Vitis. 1968, 7, 22–49.
- [22] FLEET, G. H. *Growth of yeasts during wine fermentation*. Journal of Wine Research. 1990, 1, 211–223.
- [23] QUEROL, A., BARRIO, E., HUERTA, T., RAMON, D. *Molecular monitoring of wine fermentations conducted by dry yeast strains*. Applied and Environmental Mikrobiology. 1992, 58, 2948–2953.
- [24] ATTFIELD, P. V. *Stress tolerance. The key to effective strains of industrial baker's yeast*. Nat Biotechnik. 1997, 15, 1351–1357.
- [25] BOULTON, R. B, SINGLETON, V. L, BISSON, L. F, KUNKEE, R.E. *Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. In Principles and practices of winemaking*. New York: Chapman & Hall. 1996, 153–181.
- [26] HALLSWORTH J. E. *Ethanol induces water stress in yeast*. Journal of Fermentation and Bioengineering. 1998, 85, 125–137.
- [27] HOHMANN, S, MAGER, W. H. *Yeast stress responses*. 1. vyd. Berlin: Springer Verlag, 2003, 386 s. ISBN 35-404-3926-9.
- [28] CARMEN, I, PÉREZ-ORÍN, J. E, DEL OLMO, M. *An Inverse Correlation between Stress Resistance and Stuck Fermentations in Wine Yeasts. A Molecular Study*. Biotechnology and bioengineering. 1999, 64, 6, 698-708

- [29] AMERINE, M. A., BERG, H. W., KUNKEE, R. E., OUGH, C. S., SINGLETON, V.L.U.L, WEBB, A.D. *The technology of wine making*. 4. vyd. Westport, Connecticut : AVI Publishing Co., 1982.
- [30] DEGRÉ, R., THOMAS, D. Y., ASH, J., MAILHIOT, K., MORIN, A., DUBORD, C. *Wine yeast strain identification*. American Journal of Enology and Viticulture. 1989, 40, 309-315.
- [31] QUEROL, A., BARRIO, E., RAMON, D. *A comparative study of different methods of yeast strain characterization*. Syst. Journal of Applied Microbiology. 1992, 15, 439-446.
- [32] JACKSON, R. S. *Wine science: principles, practice, perception*. 2. vyd. San Diego: Academic Press, 2000, 648 s. ISBN 01-237-9062-X.
- [33] RIBE'EAU-GAYON, P. *New developments in wine microbiology*. American Journal of Enology and Viticulture, 1985, 36, 1–9.
- [34] LAFFORT, J.-F., ROMAT, H., AND DARRIET, P. *Les levures et l'expression aromatique des vins blancs*. La Revue des Oenologues. 1989, 53, 9–12.
- [35] STEIDL, R., RENNER, W. *Problémy kvašení vín*. 1. vyd. Valtice: Národní salon vín, 2004, 74 s. ISBN 80-903-2013-9.
- [36] RAPP, A. *Wine Analysis: Wine aroma substances from gas chromatographic analysis*, 29–66 s. Berlín: Springer-Verlag, 1988. ISBN 978-3-642-83342-7.
- [37] ROJAS, V, GIL, J. V, PIÑAGA, F, MANZANARES, P. *Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations*. International Journal of Food Mikrobiology. 2003, 86, 181-188.
- [38] CURTIN, C., KING, E., KIEVIT, R. L., UGLIANO, M., HENSCHKE, P., CHAMBERS, P.: *Optimizing wine quality through the application of flavour-active yeast strains and nutrients*. Sulphur Compounds - Production and Sensory impact on wine. 2008, 16, 25-35.
- [39] STURM, C. *Untersuchungen zur Populationsdynamik der Weinhefen*. Diplomová práce, Justus-Liebig-Universität Gießen. 2003.
- [40] SILLA SANTOS, M. H. *Biogenic amines: their importance in food*. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29, 213–231.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ASVK	aktivní suché vinné kvasinky
ATP	adenosin trifosfát
BC	buněčný cyklus
BA	biogenní aminy
BMK	bakterie mléčného kvašení
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ER	endoplazmatické retikulum
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
MLF	malolaktická fermentace

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Sledování cukernatosti a obsahu kyselin.....	11
Obrázek 2: Proměřování cukernatosti ručním refraktometrem	12
Obrázek 3: Schéma buněčného cyklu <i>Saccharomyces cerevisce</i>	18
Obrázek 4: Schéma růstového cyklu kvasinek	23

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Chemické složení bílého vína.....	12
Tabulka 2: Přirozená mikroflóra kvasinek v moštu během kvašení.....	24
Tabulka 3: Produkty vytvářející se při rozdílných teplotách kvašení.....	25
Tabulka 4: Nejčastěji se vyskytující spontánní kvasinky	32
Tabulka 5: Významné estery vytvořené kvasinkami ve víně a jejich aromatické projevy.....	37