

Monitoring mikrobiologické kvality vín

Olga Novotná Křížková, DiS.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Olga NOVOTNÁ KRŽKOVÁ, DiS.**
Osobní číslo: **T08073**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Monitoring mikrobiologické kvality vín**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručně popsat technologii výroby vína.
2. Charakterizovat mikroorganismy vyskytující se ve víně.
3. Zaměřit se na mikrobiologické kontaminanty vína.
4. Charakterizovat HACCP systém při výrobě vína.

II. Praktická část

1. Vyhodnotit získané údaje o mikrobiologické kvalitě bílých a červených vín v průběhu jednoho roku (1. 10. 2009 – 30. 9. 2010).
2. Formulovat závěry o mikrobiologické kvalitě sledovaných vín v Moravských vinařských závodech.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] MCGOVERN, P., E. Ancient Wine : The search for the origins of viniculture. Princeton University Press. 2003, 487, 488, ISBN 0-691-07080-6.

[2] Fugelsang, K. C., Edwards, C. Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures. 2nd rev. ed. New York: Springer-Verlag New York Inc., 2007. 393 s.

038733341X. [online] Dostupné z:
<http://www.springerlink.com/content/978-0-387-33349-6>.

[3] FARKAŠ, J. Technológia a biochémia vína. Bratislava: Alfa. 1973, 776 s.

[4] MINÁRIK, E., NAVARA, A. Chémia a mikrobiológia vína. Bratislava: Príroda. 1986, 560 s.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Magda Doležalová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

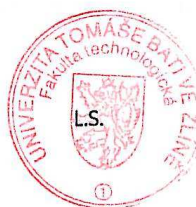
11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/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 obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/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;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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 diplomové/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 diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji 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 18. 7. 2011



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 nevydělečně 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 díla).

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 díla:

(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 jim 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 přihlíží k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na monitoring mikrobiologické kvality vín vyráběných v Moravských vinařských závodech Bzenec s.r.o. Teoretická část popisuje technologii výroby vína, mikroflóru vína a mikrobiologické kontaminanty, které ovlivňují výslednou kvalitu vína. Nejčastějšími kontaminanty nalahvovaných vín jsou zejména kvasinky a bakterie, které svou mikrobiální činností mohou vyvolat sekundární kvašení, zákal nebo křís a tím narušit výslednou sensorickou jakost vína (nikoli však zdravotní nezávadnost). Cílem praktické části byla analýza přítomnosti mikroorganismů v konečných produktech vína v průběhu jednoho roku a vyhodnocení získaných údajů o mikrobiologické kvalitě bílých a červených vín. Získané výsledky prokazují dobrou mikrobiologickou kvalitu hotových výrobků. Počet vzorků překračujících limit daný interní směrnici Moravských vinařských závodů Bzenec s.r.o. u kvasinek, bakterií a plísní nepřekročil 10 % za celé monitorovací období ani u bílých ani u červených vín. Podmínky interní směrnice byly ve všech případech splněny.

Klíčová slova: víno, mikrobiologický rozbor, kvasinky, plísně

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on monitoring of microbiological quality of wines in Moravian wineries Bzenec Inc. Theoretical part describes wine technology, wine microflora and microbiological contaminants, which affect final quality of wine. The most frequent contaminants of wine are yeasts and bacteria, which can cause secondary fermentation and turbidity. These processes lead to decrease of sensory quality of wines but they are still without health hazard. The aim of practical part was the analysis of microorganisms presented in final products within one year and evaluation of microbiological quality of white and red wines. Obtained results of practical part demonstrated good microbiological quality of final products. Number of samples exceeding limits of internal guidelines of yeasts, bacteria and moulds was higher than 10% neither among white wines nor red wines for the whole monitoring period. Limits of internal guidelines were fulfilled in all tested samples.

Keywords: wine, microbiological analysis, yeasts, moulds

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Magdě Doležalové, Ph.D. za vzorné vedení mé bakalářské práce, za věnovaný čas a ochotu, cenné rady a připomínky poskytované v průběhu zpracování práce. Ráda bych také poděkovala všem ostatním, kteří mi jakýmkoliv způsobem pomohli při práci.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 HISTORIE VINAŘSTVÍ.....	12
1.1 HISTORIE VINAŘSTVÍ VE BZENCI.....	13
2 TECHNOLOGIE VÝROBY VÍNA.....	14
2.1 DRCENÍ HROZNŮ A PŘÍPRAVA RMUTU.....	14
2.2 LISOVÁNÍ RMUTU.....	15
2.3 ÚPRAVA MOŠTU PŘED KVAŠENÍM.....	15
2.4 KVAŠENÍ MOŠTU.....	16
2.5 ŠKOLENÍ VÍNA.....	17
2.6 LAHVOVÁNÍ A EXPEDICE.....	17
3 MIKROORGANIZMY VYSKYTUJÍCÍ SE VE VÍNĚ.....	18
3.1 KVASINKY A KVASINKOVÉ MIKROORGANIZMY.....	18
3.1.1 Výskyt kvasinek na přírodních stanovištích.....	18
3.1.2 Kvasinková flóra moštů a její změny během kvašení.....	19
3.1.3 Kvasinková flóra vína.....	20
3.1.4 Kvasinková flóra druhotných stanovišť.....	20
3.2 BAKTERIE.....	21
3.2.1 Mléčné bakterie.....	21
3.2.1.1 Octové bakterie.....	22
3.3 PLÍSNĚ.....	22
3.4 NEMOCI A VADY VÍNA ZPŮSOBENÉ MIKROORGANIZMY.....	23
3.4.1 Křísovatění.....	23
3.4.2 Vláčkovatění vína.....	23
3.4.3 Myšina.....	24
3.4.4 Hořknutí vína.....	24
3.4.5 Příchut' po plísni.....	24
4 HACCP SYSTÉM.....	25
4.1 HACCP SYSTÉM PŘI VÝROBĚ VÍNA.....	26
4.1.1 Vytvoření a zavedení systému HACCP při výrobě vína.....	26
5 CÍL PRÁCE.....	28
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	29
6 MATERIÁL A METODY.....	30
6.1 VZORKY VÍNA.....	30
6.2 MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR.....	30
7 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	32
7.1 SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU KVASINEK.....	32
7.2 SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU PLÍSNÍ.....	36
7.3 SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU BAKTERIÍ.....	41
ZÁVĚR.....	45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	47

SEZNAM TABULEK.....	51
SEZNAM OBRÁZKŮ	52

ÚVOD

Víno se už po tisíciletí považuje za zdravý nápoj. Charakterem a použitím se víno řadí mezi pochutiny. Jeho hodnota je dána obsahem látek, které jsou nezbytné pro výživu člověka. Víno obsahuje kromě základních složek, jako jsou etanol, cukr a kyseliny také řadu mikroelementů, které mají vliv na organismus. Víno obsahuje látky, jež jsou původní součástí moštů nebo rmutu, látky vznikající kvašením a látky cizorodé, které se dostávají do vína v průběhu technologického procesu a patří buď k běžným složkám vína, nebo do vína vůbec nepatří. Víno je také produktem interakcí mezi kvasinkami, bakteriemi a plísněmi, které začínají již ve vinohradu a pokračují během kvasných procesů až do nalahvování. Mikroorganismy tedy ovlivňují jemnost a osobitost chutě a vůně vína.

Výroba vína je souhrnně označována jako biotransformace moštu na víno, která je hlavně ovlivňována kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* během hlavního alkoholového kvašení. V období prvních fází růstu hroznů nejsou na bobulích téměř žádné kvasinky, vegetují zde jen bakterie a plísně. Od zaměknutí hroznů až do jejich sklizně, za předpokladu příznivých klimatických podmínek, se výskyt kvasinkové flóry neustále zvyšuje jak kvantitativně tak kvalitativně. V kvasících moštech a mladých vínech převládají druhy *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces oviformis*, dále se zde vyskytují také *Hanseniaspora apiculata* a *Metschnikowia pulcherrima*, které jsou odpovědné za zahájení spontánního kvašení v moštech.

Tato práce je zaměřena na mikroflóru vína, konkrétně na výskyt mikroorganismů v hotovém výrobku po filtraci a nalahvování, kde by se mikroorganismy již neměly vyskytovat, jelikož by mohly negativním způsobem ovlivnit kvalitu finálního výrobku – vína v lahvích.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORIE VINAŘSTVÍ

Víno se považuje už tisíce let za nejcennější nápoj, který se podával při královských hostinách, hostinách šlechticů i při náboženských slavnostech. Rozšiřováním vinic a zvyšováním produkce hroznů se rozšířil konzum vína mezi široké vrstvy obyvatelstva [1].

Víno a vinařství má dlouhou historii. Víno samotné je asi jednou z prvních věcí, co člověk vyrobil, ať už vědomě či nevědomě a zaujímá zvláštní místo v mnoha kulturách. Z paleontologických objevů je zřejmé, že révovité rostliny vyrůstaly v nejrůznějších oblastech naší planety. V období svého přirozeného vývoje podléhaly přírodnímu výběru jedinců na četných stanovištích. Postupně se vytvořilo několik druhů rodu *Vitis*, adaptovaných k určitým ekologickým podmínkám [2]. Nejstarší poznatky o pěstování a využití vinné révy pocházejí z území dnešní Sýrie a z jižního výběžku Kavkazu na území dnešní Gruzie. Zde byly zaznamenány archeologické nálezy hliněných nádob, které se již před 6000 let př. n. l. používaly ke konzervaci vína. Opravdový kult pití vína vznikl ve starověkém Řecku, kde bylo požívání vína spojeno s bohem Dionýsem [3].

Pěstování vinné révy na Moravě se datuje od 3. století n. l. Tehdy za vlády římského císaře Marka Aurelia Proba byl vojákům desáté legie dán příkaz, aby vysázeli vinice poblíž svého ležení u nyní zaniklé obce Mušov pod pálavskými kopci. Z těchto míst se pěstování vinné révy postupně rozšířilo po celé jižní Moravě a v 9. století n. l. do Čech. Velkomoravští vladaři tuto činnost podporovali [4]. Odrůdy vinné révy, které se na naše území dovážely římskými vojáky z jižních oblastí, však v našich severních oblastech špatně uzrávaly a dávaly špatnou kvalitu vína. Proto Karel IV. dal do Čech dovézt révu z Francie, Porýní a Rakouska a nařídil její pěstování všude, kde k tomu byly vhodné podmínky. Na Moravě stejně jako v Čechách byly ve středověku vysazovány vinice zejména na pozemcích patřících klášterům, šlechtě, případně i městům [5]. Počínaje 14. stoletím nabývala kultura vinné révy stále více na hospodářském významu, takže se vinařství stalo důležitým zemědělským výrobním odvětvím. Avšak díky válkám husitským, a zejména pak válkou třicetiletou byly vinice v Království českém i Markrabství moravském značně poničeny. Vesnice se vypalovaly a opuštěné vinice pustly. Rovněž pozdější války česko-uherské, stejně jako napoleonské, vinicím v žádné zemi neprosperovaly. V průběhu 19. století, zejména v jeho druhé polovině, nastal rozkvět vinařství i v našich oblastech. Vrcholu rozvoje bylo na našem území dosaženo kolem roku 1886 [6, 7].

Dnes je pěstování vinné révy v ČR soustředěno zejména do Jihomoravského kraje. V české vinařské oblasti je vinná réva pěstována na svazích břehů řek Labe a Ohře [8].

1.1 Historie vinařství ve Bzenci

Historické písemné dokumenty, v nichž je zmínka o vinařství ve Bzenci se datují od 11. století. Tak jak Bzenec střídal majitele, střídala se i úroveň vinařství v tomto kraji. Velkého rozmachu dosáhlo zámecké vinařství ve Bzenci v 18. století za ředitele pana Františka Schwarzmana. V roce 1875 byla na zámku založena výroba šumivých vín klasickou metodou, podle francouzského vzoru [9].

V roce 1938 prodal zámek včetně podzemních prostor a zámeckého parku majitel Antonín Mágnis družstvu. V roce 1948 dochází k rajónování vinařských oblastí Moravy. Vinařské družstvo ve Bzenci bylo sloučeno s obdobnými družstvy v Mutěnicích, Strážnici, Polešovicích, Kyjově a Čejkovicích, čímž byly vytvořeny Slovácké vinařské závody, národní podnik Bzenec. Slovácké vinařské závody později převzaly další provozovny a to sklepy v Přerově, v Olomouci a v Ostravě [10].

Po roce 1989 se tyto závody stávají samostatnými státními podniky, které jsou zahrnuty do první vlny kuponové privatizace. Od 1. května 1992 se firma stává akciovou společností s názvem Víno Bzenec, a. s. Mohlo by se zdát, že je to šťastný konec, ale opak je pravdou. V roce 1994 firma ukončuje svou činnost a zámek chátrá [9].

Až v letech 2006 začíná kompletní rekonstrukce výrobních prostor zámeckého vinařství a v roce 2008 je na zámku obnovena výroba vína v moderním vinařském podniku nesoucím název Moravské vinařské závody Bzenec s.r.o., který je vybaven nejmodernější vinařskou technologií [9, 10].

2 TECHNOLOGIE VÝROBY VÍNA

Víno je nápoj vyrobený alkoholickým kvašením vinného moštu získaného z hroznů vinné révy (*Vitis vinifera*), při kterém se přírodní cukr působením kvasinek mění na alkohol a oxid uhličitý [2]. Podle vinařského zákona č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství, ve znění pozdějších předpisů, se třídí vína na révová vína stolní, jakostní – tj. odrůdová nebo známková a s přívlastkem (predikátní), kde se rozlišují podle obsahu cukru v moštu vína kabinetní, pozdní sběry a výběry. Obchodně se rozdělují vína na výběrová (ročníková), odrůdová (min. 75 % hroznů jedné odrůdy), typová a značková. Technologické zpracování dále umožňuje třídít vína na tichá a šumivá (sekty) resp. perlivá (sycená oxidem uhličitým), dále dezertní, kořeněná (vermuty) a nízkoalkoholická s obsahem do 6 % obj. alkoholu. Podle barvy známe vína bílá, růžová a červená. Podle obsahu cukru se dělí na suchá (do 4 g cukru v jednom litru), polosuchá (do 18 g cukru v jednom litru), polosladká (do 45 g cukru v jednom litru) a sladká [11]. Pro výrobu vína je nejdůležitějším kritériem obsah cukru. Ten se udává ve stupních normalizovaného moštoměru (°NM). Tyto stupně odpovídají obsahu zkvasitelných cukrů ve vinných hroznech, vyjádřených v kilogramech na 1 hektolitr hroznového moštu [12].

Výroba vína zahrnuje tyto technologické operace:

- 1) drcení hroznů a příprava rmutu,
- 2) lisování rmutu,
- 3) úprava moštu pro kvašení,
- 4) kvašení moštu,
- 5) školení vína,
- 6) lahvování a expedice [3].

2.1 Drcení hroznů a příprava rmutu

Před lisováním je třeba pro snadnější uvolnění šťávy z bobulí hrozny rozemlít tak, aby byly odděleny třapiny od bobulí a ty narušeny, čímž vznikne rmut [12]. Drcením se také zvyšuje výlisnost a zabrání se zapaření. Při drcení nemají být rozmačkány třapiny a pecičky, z nichž by se dostala do moštu nepříjemná příchut' z nežádoucích látek, jako třísloviny, oleje a chlorofyl [6].

Rmut se dále zpracovává následovně:

- při výrobě bílých vín se rmut okamžitě lisuje,
- při výrobě z aromatických odrůd (např. Tramín, Muškát, Ryzlink rýnský, Sauvignon apod.) se provádí nakvášení po dobu asi 6 hodin, za účelem vyloužení aromatických látek ze slupek,
- při výrobě červených vín se rmut z modrých hroznů musí nechat nakvášet pro vyloužení tříslovin a antokyanových barviv [3].

Veškeré červené barvivo se nachází ve slupkách hroznů a zde spočívá rozdíl mezi výrobou červených a bílých vín. Pokud by se hrozny na výrobu červených vín ihned po sklizni lisovaly, získal by se bezbarvý mošt, ze kterého po prokvašení vznikne bílé víno, které se nazývá klaret [13]. Proto u červených vín musí slupky, které jsou bohaté na barvivo do kvasných nádob spolu s moštem, kde se vše po určitou dobu maceruje a nakváší [14]. Doba vyluhování závisí na vyzrálosti hroznů, jejich zdravotním stavu a dále na nakvašovací teplotě. Po určité době se vlivem osmotických tlaků vyrovnají koncentrace barviv ve slupce a v kvasícím moštu [3].

2.2 Lisování rmutu

Lisování je část technologického postupu, při kterém se odděluje mošt od pevných částí rmutu [15]. V dnešní době se nejčastěji používají šroubové, pneumatické nebo hydraulické lisy různé konstrukce [16]. Intenzitu lisování ovlivňuje kromě konstrukce lisu i použitý tlak, mechanické vlastnosti rmutu, důležitý je také stupeň zralosti hroznů a odrůda [12]. Lisování musí být pozvolné a přerušované, aby mošt plynule odtékal. Výlisnost hroznů se zpravidla pohybuje okolo 70 – 75 % [4].

2.3 Úprava moštu před kvašením

Víno je asi jediný nápoj, který nepotřebuje žádné přísady na zlepšení své kvality. Pokud však má být víno stabilní, které se nebude po naplnění do lahví kalit, mělo by se podrobit menším úpravám, které je vždy výhodnější dělat v moště před kvašením [1].

Ošetření moštu před kvašením je zaměřeno jednak na zlepšení jeho nedostatků, které vznikají vlivem nepříznivých klimatických podmínek, jednak na jeho přípravu ke kvašení [6]. Bez zlepšení moštů z hroznů, které nedosáhly technologické zralosti,

by budoucí víno neodpovídalo požadavkům určených ze zákona. Proto k základním úpravám moštu před kvašením patří:

- úprava cukernatosti,
- síření moštu,
- úprava kyselin v moštu [3].

2.4 Kvašení moštu

Kvašení moštu je složitý biochemický proces, jímž se cukr z hroznové šťávy za pomoci kvasinek kvasí na etanol a mění se tak na víno, které obsahuje i další látky např. kyseliny, aromatické a barevné látky, glycerin a třísloviny [8].

Činností vinných kvasinek se začne ve vylisovaném a posléze upraveném moštu rozkládat glukóza a fruktóza. Sacharózu přidávanou do moštu při cukření nemohou kvasinky zkvašovat ihned, ale musí ji nejprve enzym invertáza rozložit na glukózu a fruktózu [17]. Kvašení moštu se účastní nejen ušlechtilé vinné kvasinky *Saccharomyces cerevisce* var. *vini*, ale i *Saccharomyces oviformis* [18]. Z technologického hlediska lze kvašení rozdělit na tři fáze a to na začátek, bouřlivé kvašení a dokvášení. Začátek kvašení charakterizuje rozmnožování kvasinek, které probíhá zpočátku pozvolna, proto obvykle mošt ihned nekvasí. Na začátku rozkvášejí mošt divoké kvasinky (apikulátní), které brzdí činnost kulturních vinných kvasinek. Jakmile rozkvášený mošt obsahuje 3 – 5 % obj. alkoholu, nastává velký obrat ve složení kvasničné mikroflóry [19]. Alkohol usmrcuje apikulátní kvasinky a ušlechtilé vinné kvasinky se začnou rychle rozmnožovat. Zvyšuje se i teplota moštu, nastává větší uvolňování oxidu uhličitého a mošt bouřlivě kvasí. Rozkvášený mošt v době bouřlivého kvašení, kdy ještě obsahuje více cukru než alkoholu, se nazývá „burčák“. Cukru v moštu stále více ubývá, zvyšuje se množství alkoholu, kyseliny začínají zastírat sladkost a nastává fáze dokvášení, která může v některých případech trvat i několik měsíců [12]. Po skončení kvašení kvasinky s nečistotami klesají ke dnu a víno se začne čistit [7].

2.5 Školení vína

Po kvašení nastávají ve víně rozličné fyzikální, chemické a biologické změny. Charakteristické pro toto období je odbourávání kyselin a samovolné čištění vína. Průběh těchto změn je možné vhodnými technologickými zásahy usměrnit, a tak podstatně zlepšit kvalitu vína [15].

Školení vína je soubor úkonů, zaměřených na zlepšení a uchování jeho vlastností čiřením, filtrací, případně scelením a zabezpečením jeho stability před lahvováním [12]. Školení vína začíná v podstatě už prvním přetáčením vína z kvasnic, kdy po dokvašení posledních zbytků cukru sedimentují jejich buňky spolu s ostatními vysráženými látkami ke dnu, kde se usadí v podobně kvasničného kalu [6]. Při prvním stáčení se většinou nepovede oddělit víno od všech kvasnic, proto musí za určitou dobu následovat druhé stáčení [20].

Po prvním i druhé stáčení se vína před filtrací číří [12]. Pod pojmem číření vína se rozumí přidavek určitých látek k vínu, které buď působením svého povrchu, nebo vytvářením koloidní sraženiny s některými látkami obsaženými ve víně strhávají kalící částice k rychlejší sedimentaci a způsobují tak úplné vyčištění vína neboli jeho čirost [6]. K nejčastějším čířícím látkám patří agar, želatina, tanin, kasein, vaječný bílek, vyzina, bentonit aj. Číření se nejčastěji spojuje s filtrací [21].

2.6 Lahvování a expedice

Na běžném trhu se víno prodává v typizovaných, popřípadě tvarovaných lahvích. Láhve musí být vždy dokonale čisté [22]. Vlastní stáčení vína do lahví má proběhnout za omezeného přístupu vzduchu. Vyčištěné a stabilizované víno se stáčí přes různé druhy filtrů nebo jiné stáčecí zařízení. Naplněné láhve se ihned zátkují [23].

3 MIKROORGANIZMY VYSKYTUJÍCÍ SE VE VÍNĚ

Hroznový mošt obsahuje mnoho druhů různých mikroorganismů [15]. Mikroflóra moštu je odlišná od mikroflóry vína, a závisí hlavně na zdravotním stavu hroznů. V moštu ze zdravých hroznů se vyskytuje mnoho zástupců kvasinek různých čeledí, rodů a druhů v menším množství bakterie a plísně [24]. Mošty z hroznů napadených chorobami nebo z nahnilých bobulí obsahují vyšší množství populací bakterií a plísní, často také převyšují počet kvasinek. Mikroorganismy přírodních stanovišť (půda, části rostliny vinné révy) jsou v moštech doplněny o mikroorganismy z tzv. druhotných stanovišť vinařského průmyslu (stroje, zařízení, stěny nádob, oděv pracovníka). Vína obsahují oproti moštu o mnoho menší počet mikroorganismů, z kterých převládají druhy odolné proti alkoholu, nevyžadující přítomnost kyslíku a snášející přítomnost oxidu siřičitého. I v průběhu kvasného procesu se složení a množství mikroorganismů mění. Všechny uvedené skutečnosti jsou důležité pro tvorbu budoucího vína, hlavně pro jeho kvalitu a stabilitu [25]. Z vinařsko-technologického hlediska jsou nejdůležitější kvasinky [26].

3.1 Kvasinky a kvasinkové mikroorganismy

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, náležící mezi houby (*Fungi*). Český název dostaly pro schopnost většiny druhů zkvašovat monosacharidy a některé disacharidy, případně i trisacharidy na etanol a oxid uhličitý [27]. Z praktického hlediska se rozdělují na dvě základní skupiny, a to na kvasinky, které tvoří spory, to jsou tzv. sporogenní kvasinky (*Ascomycetes*, *Basidiomycetes*) a kvasinky, které netvoří spory, to jsou tzv. nesporogenní kvasinky (*Deuteromycetes – Fungi imperfecti*). Kvasinky jsou mikroorganismy v přírodě velmi rozšířené [25]. Nižší pH vína, vyšší koncentrace cukru, anaerobní podmínky a přítomnost fenolických látek vytváří ideální prostředí pro růst a rozmnožování kvasinek v moštu. Metabolická aktivita kvasinek má vliv na složení vína, hlavně na aroma a chuťové vlastnosti vína [28].

3.1.1 Výskyt kvasinek na přírodních stanovištích

Společenstvo kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů na hroznu závisí ve značné míře na ekologických podmínkách vinohradnické oblasti. Je výsledkem dlouhodobého složitého procesu přizpůsobování těchto mikroorganismů vnějším faktorům, např. půdním a klimatickým podmínkám a místním podmínkám pěstování vinice. Na kvantitativní i kvalitativní složení mikroflóry mají určitý vliv i biologické zásahy člověka, např. aplikace

pesticidů při ochraně vinice [29]. Za přírodní stanoviště kvasinek se považuje hlavně půda a vinice. Z listů, bobulí a jiných částí vinné révy se kvasinky dostávají do půdy hmyzem, deštěm, opadanými listy, bobulemi apod. [25].

3.1.2 Kvasinková flóra moštů a její změny během kvašení

Kvasinkovou flóru hroznu a spontánně kvasících moštů bílých a modrých kultivarů tvoří pestrá paleta sporogenních a asporogenních kvasinek. V počáteční fázi kvašení moštu všeobecně dominující společenstva kvasinek *Hanseniaspora apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima*, na které navazuje *Saccharomyces cerevisiae* ve fázi bouřlivého kvašení a *Saccharomyces oviformis* ve fázi dokvašení [23].

Podle zastoupení v kvasinkové flóře a podle frekvence na hroznu, v moštu a ve rmutu je možné kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy přírodních stanovišť rozdělit do tří skupin. První skupinu tvoří nesporulující (asporogenní) druhy *H. apiculata* a *M. pulcherrima*, které se vyskytují hlavně v počáteční fázi kvašení bez ohledu na ekologické podmínky vinohradnické oblasti. Jsou všeobecně zodpovědné za začátek spontánního kvašení moštu a rmutu. Sem patří i typické vinné kvasinky *S. cerevisiae*, které navazují zpravidla po 2 až 3 dnech na aktivitu uvedených méně výkonných asporogenních kvasinek, které jsou eliminovány vlastním metabolitem kvašení – etanolem. *S. cerevisiae* jsou podstatně odolnější proti vznikajícímu alkoholu a zpravidla velmi rychle potlačí nesporulující druhy. Do první skupiny se zařazuje i *S. oviformis* – typické dokvášující kvasinky, které zodpovídají za vykvašení posledních zbytků cukru. V sudových a občas i v nalahvovaných vínech vyvolávají druhotné – sekundární kvašení vín se zbytkem cukru a s tím spojené zákaly [26].

Do druhé skupiny patří druhy kvasinek, kterých význam pro technologii vína je sice z hlediska procentuálního zastoupení v kvasinkové flóře a frekvence v moštech a rmutech druhořadý, mohou však alkoholové kvašení ovlivnit v některých vinohradnických oblastech, např. *Hansenula anomala* var. *anomala* [30].

Do třetí skupiny je možné zařadit většinu ostatních druhů kvasinek, které se v mikroflóře moštů vyskytují jen sporadicky, náhodně a v minimálním zastoupení. Nelze jim tedy připisovat žádný technologický význam [29]. Patří sem např. *S. italicus* a *S. chevalieri* [30].

3.1.3 Kvasinková flóra vína

Mikroflóru mladých vín charakterizuje dominance druhů tolerantních proti alkoholu (*S. cerevisiae*, *S. oviformis*, *C. vini*, *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *H. anomala* var. *anomala*, *Pichia* sp.), jsou to tzv. pravé kontaminanty zařízení a nazývají se křísotvorné kvasinky [25, 26]. Přítomnost sporogenních druhů kvasinek téměř v 90 % mladých vín signalizuje zvýšenou aktivitu těchto kvasinek, které bývají původci biologických zákalů, resp. sekundárního kvašení sudových i nalahvovaných vín. Původci zákalů nalahvovaných vín jsou však nejčastěji fruktofilní, osmotolerantní a zčásti chemorezistentní *Zygosaccharomyces bailii* var. *bailii* [13].

3.1.4 Kvasinková flóra druhotných stanovišť

Kontaminující kvasinky a kvasinkové mikroorganismy ve vinařských provozovnách lze rozdělit do tří skupin.

První skupina zahrnuje druhy, které se nacházejí i na přírodních stanovištích (*S. cerevisiae*, *S. oviformis*). Tyto kvasinky nelze považovat za pravé kontaminanty, protože se zúčastňují i spontánního kvašení moštu. Ve víně však zodpovídají za nežádoucí aktivitu, která se projevuje zákalem nebo druhotným kvašením vína [15].

Druhá skupina zahrnuje druhy s aerobním metabolismem (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula* sp.). Tyto druhy patří mezi pravé kontaminanty zařízení [31].

Ve třetí skupině jsou zařazeny asporogenní druhy rodu *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* atd. Tyto kvasinky sice nezpůsobují biologické zákal, jsou však indikátorem dodržování stupně hygieny v provozovnách [32].

Kontaminační druhy kvasinek a kvasinkových mikroorganismů kvasných a ležáckých nádob tvoří druhy rodů *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* a *Hanseniaspora*, resp. vzdušné epifyty [25]. Podobnou paletu druhů je možné najít i na stěnách a podlaze sklepů a pracovních místností vinařského závodu [12]. V období sběru a těsně po něm se na zařízeních vyskytují i apikulární kvasinky *H. apiculata*, dále *S. cerevisiae* a *S. oviformis*, tedy druhy, které se běžně vyskytují v mladých vínech [32].

3.2 Bakterie

Vedle kvasinek a kvasinkových mikroorganismů se ve viniční půdě, na révových keřích, hroznech, mošttech, vínech a sklepích nachází řada bakterií [33]. Jsou to jednobuněčné prokaryotické mikroorganismy, které nemají morfologicky diferenciované jádro oddělené jadernou membránou od cytoplazmy [27]. Všechny bakterie vína se považují za heterotrofní mikroorganismy, což znamená, že jako energetický a stavební zdroj využívají už vytvořenou organickou hmotu, zejména cukry, organické kyseliny a jiné [25].

V mošttech a vínech se vyskytuje jen omezený počet druhů bakterií, protože většina bakterií není schopná metabolismu s nízkým pH, tj. v kyselých prostředích, jako jsou mošty a vína. Z technologického hlediska se bakterie rozdělují na užitečné, kterými se víno zlepšuje, protože jejich účinkem probíhá odbourávání kyseliny jablečné na mléčnou (jablečno-mléčná fermentace) a škodlivé bakterie, vlivem kterých probíhají ve víně nežádoucí mikrobiologické změny [25].

Bakterie vyskytující se ve víně jsou na rozdíl od ostatních druhů bakterií přizpůsobeny nižšímu pH a dobře se vyvíjejí při pH mezi 3 a 4. Nejdůležitější bakterie vína a moštu jsou octové bakterie a mléčné bakterie [30].

3.2.1 Mléčné bakterie

Mléčné bakterie získávají energii hlavně fermentací cukrů, spotřebovávají hlavně hexózy vína, glukózu a fruktózu, jako zdroj energie a uhlíku. Heterofermentativní bakterie mléčného kvašení mohou ve víně využívat také pentózy (arabinózu, xylózu, ribózu), které jsou ve víně obsaženy v menších koncentracích [28]. Téměř všechny bakterie mléčného kvašení jsou schopny rozkládat kyselinu L-jablečnou za vzniku kyseliny mléčné a současného snížení acidity vína. Biologické odbourávání kyselin, jak se jablečno-mléčnému kvašení v praxi říká, probíhá převážně po hlavním alkoholovém kvašení a při dokvašení, protože bakterie mléčného kvašení potřebují větší množství dusíkaté výživy, kterou berou v první řadě z mrtvých autolyzovaných kvasinek. Mezi bakterie, které zodpovídají za odbourávání kyseliny L-jablečné hlavně ve vínech s vyšší kyselostí, patří bakterie rodu *Leuconostoc*. Bakterie rodu *Lactobacillus* zodpovídají za odbourávání kyseliny L-jablečné ve vínech s vyšším pH [26].

Některé druhy mléčných bakterií mohou působit na kvalitu vína silně negativně, např. *Lactobacillus plantarum*, který je schopen rozkládat v červených vínech kyselinu

vinnou, vinný kámen a glycerol na kyselinu octovou, mléčnou a oxid uhličitý. Tento nežádoucí jev se nazývá zvrhnutí vína [34].

3.2.1.1 Octové bakterie

Octové bakterie vína patří do rodu *Acetobacter* a *Pseudomonas* [26]. Jsou to aerobní, gramnegativní bakterie, které mají tvar krátkých válcových buněk, vyskytující se nejčastěji v řetězcích. Na povrchu vína vytvářejí bílou až světlešedou pokožku, která rychle roste, hrubne, až souvisle pokrývá celý povrch vína. Nebezpečí přítomnosti octových bakterií ve víně spočívá v tom, že při vyšší teplotě a dostatečném přístupu vzduchu přeměňují alkohol na kyselinu octovou. Zvyšuje se tak množství těkavých látek ve víně a víno dostává charakteristickou octovou příchuť. V přírodě jsou octové bakterie velmi rozšířené. Vyskytují se na zeleném hrozně, hlavně však na nahnilých a jinak poškozených bobulích. V průběhu kvašení se nemohou rozmnožovat, protože vznikající oxid uhličitý brání přístupu kyslíku, který nutně potřebují pro svůj růst [25].

3.3 Plísně

Jako plísně označujeme mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy, náležející mezi houby (*Fungi*) [27]. Spolu s kvasinkami a bakteriemi tvoří mikroflóru vinice v průběhu vegetace. Vyskytují se i na stěnách sklepů, sudů a zařízení, hlavně neodborně ošetřených dřevěných nádob na víno. Z vinařského hlediska jsou důležité dvě třídy plísní a to *Zygomycetes* a *Ascomycetes* [26]. Pro vinařskou praxi má z třídy *Zygomycetes* význam čeleď *Mucoraceae*. Houby této čeledi jsou rozšířeny v přírodě. Žijí většinou saprofyticky na odumřelých rostlinách a živočiších. Některé druhy jsou i patogenní. Z této čeledi jsou významné hlavně rody *Mucor* a *Rhizopus* [35].

Plísně rodu *Mucor* tvoří rozvětvené sporangiofory [36]. Vyskytují se na vinné révě po celý rok. Největší význam z tohoto rodu má hlavně druh *Mucor racemosus*. V půdě vinogradů lze najít i další druhy, např. *Mucor spinosus*, *Mucor mucedo*, *Mucor pyriformis* a *Mucor hiemalis* [25].

Rod *Rhizopus* je také velmi rozšířený rod v přírodě, kde působí kažení ovoce. Ve vinařství má větší význam jen druh *Rhizopus stolonifer* [27]. Vyskytuje se na zahnívajících bobulích hroznů, v půdě, ve vzduchu apod.

Pro zástupce třídy *Ascomycetes* je charakteristická tvorba askospor. Pro vinařství má význam hlavně *Botrytis cinerea* a čeleď *Aspergillaceae* a v ní rody *Aspergillus*

a *Penicillium*, které patří mezi nejrozšířenější a nejčastěji se vyskytující plísňe [15]. Mají význam jako kontaminanty bobulí hroznů. Napadají poraněné bobule hroznů, kde způsobují hnilobu. Často napadají i vinné sudy a další zařízení vinařských provozoven, ale také korkové zátky [25]. Produkují nepříjemný zápach, který může přejít do vína, kde způsobují odpornou plesnivou příchuť, která se jen těžko odstraňuje [26].

Botritis cinerea se projevuje dvojitým způsobem, může způsobit ušlechtilou nebo zhoubnou hnilobu hroznů. Záleží na meteorologických podmínkách. Pokud je v období dozrávání suché slunečné počasí, vytváří se plíseň ušlechtilá, z hroznů vznikají cibéby, které vytváří osobitý charakter vín. V nepříznivých podmínkách se může zvrhnout na zhoubnou hnilobu, která hrozny často úplně zničí [5].

3.4 Nemoci a vady vína způsobené mikroorganismy

Přes veškeré úsilí o pečlivou práci a zachování úzkostlivé čistoty při výrobě vína se může stát, že některé z vín bude mít proti zdravým vínům závady, které nepříjemně působí při jeho konzumování [6]. V nepříznivých podmínkách jako jsou nahnilé hrozny, nevhodné nádoby na uskladnění vína, vyšší teploty a chyby v technologickém postupu, mohou nastat odchylky od normálního vývoje vína, které se projeví celkovým zhoršením kvality. Zhoršení kvality se projeví v chuti a ve vzhledu vína [1].

3.4.1 Křísovatění

Křís je nejrozšířenější nemoc vína. Způsobují ji kožotvorné, kyslíkomilné kvasinky, hlavně druh *H. anomala*, *P. membranaefaciens* a *C. krusei*, které oxidují etanol na vodu a oxid uhličitý a tvoří těkavé kyseliny a aldehydy [3]. Jsou přítomny již na hroznech a odtud se dostávají do moštu. Přecházejí kvašení a ve víně se začnou rozmnožovat teprve tehdy, když byl oxid uhličitý z vína vytlačen vzduchem [6].

3.4.2 Vláčkovatění vína

Vláčkovatění nebo také slizovatění vína způsobují slizovité bakterie rodu *Streptococcus*. Tyto bakterie produkují slizovitou látku, kterou se obalují a vzájemně spájí. Tímto se vína zahustí, dostávají olejovou konzistenci [15]. Vláčkovatění napadá hlavně vína, která nejsou dostatečně prokvašená, mají zbytek cukru a nízký obsah alkoholu [1].

3.4.3 Myšina

Myšina je velmi nepříjemná nemoc s příchutí a vůní po myších výkalech, proto se stává víno takřka nepoživatelné [15]. Je způsobena pravděpodobně mléčnými bakteriemi a kvasinkovými mikroorganismy *Brettanomyces*, které jsou také zodpovědné za živočišné tóny vůní, zvláště v nedbale ošetřovaných sudech [13].

3.4.4 Hořknutí vína

Tato choroba se vyskytuje výlučně v červených vínech. Způsobují ji heterofermentativní bakterie *Lactobacillus* sp. a příbuzné bakterie mléčného kvašení, které biologicky zkvašují glycerol na akrolein a ten se chemicky váže s polyfenoly vína, hlavně tříslovinami na hořké látky příbuzné hořkým látkám chmele [15]. Při hořknutí vína se současně zvyšuje i hladina těkavých kyselin. Projevuje se ztrátou barvy, tříslovin a nepříjemnou nahořklou chutí [23].

3.4.5 Příchut' po plísni

Je vada, která se přenáší do moštů a vína z poškozených hroznů, z nahnilých hroznů, ale také z hadic, sudů a znečištěného náradí houbami rodu *Penicillium*. Tato příchut' může vzniknout i v lahvích vína použitím nečistých plesnivých korkových zátek [37].

4 HACCP SYSTÉM

HACCP je zkratka anglického názvu „Hazard Analysis and Critical Control Points“, což v češtině znamená analýza nebezpečí a stanovení kritických kontrolních bodů. Tento systém se ve světě používá pro preventivní opatření, sloužící k zajištění zdravotní nezávadnosti pokrmů a potravin během všech činností, které souvisejí s jejich výrobou, zpracováním, skladováním, manipulací, přepravou a prodejem konečnému spotřebiteli. Zjednodušeně lze říct, že se vypracovaný Systém kritických bodů skládá ze dvou základních částí:

1. příručka HACCP
2. protokoly (tabulky k záznamům kontrol) [38].

Pro zavádění systému kritických bodů byl formulován postup, který zahrnuje sedm základních principů:

- provedení analýzy nebezpečí
- stanovení kritických bodů
- stanovení znaků a kritických mezí v kritických bodech
- vymezení systému sledování v kritických bodech
- stanovení nápravných opatření pro každý kritický bod
- zavedení ověřovacích postupů
- zavedení dokumentace [39].

Plán HACCP se vytváří pro každý výrobní provoz individuálně. Není však třeba ho zavádět na každý jednotlivý výrobek v případech, kde jde o skupinu výrobků s identickou výrobní technologií a zařízením. Takto vytvořená skupina se stává předmětem analýzy nebezpečí jako celku. Rozdělení výrobků a surovin na skupiny zmenšuje náročnost analýzy nebezpečí na únosnou míru a omezuje administrativu s tím spojenou, aniž by to negativně ovlivnilo funkčnost systému a nezávadnost finálního výrobku, což je hlavní cíl systému HACCP [40].

4.1 HACCP systém při výrobě vína

Mezi základní povinnosti a cíle potravinářských podniků, výrobce vína a vinařských produktů nevyjímaje, patří mimo jiné výroba jakostních a nezávadných potravin. Základní mezinárodní práva pro zajištění zdravotně bezpečných potravin jsou obsaženy v nařízení č.2004/852/ES. potažmo v dokumentu Codex Alimentarius 1993. Systém HACCP slouží tedy výrobcům vín a vinařských produktů jako nástroj k zajištění toho, aby produkovali pouze vína a jiné vinařské produkty bezpečné pro konečného spotřebitele, jemuž jsou primárně určeny k přímé konzumaci [41].

4.1.1 Vytvoření a zavedení systému HACCP při výrobě vína

Vytvoření systému založeného na principech HACCP může u výrobců vín proběhnout například v těchto krocích:

- a) vyráběný produkt – je třeba si uvědomit, co konkrétního bude vyráběno tj. víno, a jaká rizika tento produkt může v sobě pro spotřebitele nést, případně jaká rizika představuje používaný obal;
- b) výrobní postupy – výrobou vína se rozumí několik na sebe navazujících operací, z nichž každá může nést potenciální rizika. Aby nemohlo dojít k opomenutí žádného výrobního kroku a aby mohlo být v každém výrobním kroku provedeno zhodnocení možných nebezpečí, je nejlepším a nejpřehlednějším řešením vytvoření vývojového diagramu prováděných výrobních postupů [41];
- c) analýza nebezpečí – v každém výrobním kroku výrobního postupu je třeba zhodnotit tři druhy nebezpečí (biologické – hniloba aj.; fyzikální – střepy skla v lahvích, kameny apod.; chemické – např. zbytky sanitačních prostředků, konzervační látky, toxiny vzniklé činností mikroorganismů apod.)
- d) stanovení kritických bodů – jsou stanoveny na základě provedené analýzy nebezpečí ve výrobních krocích. V těchto bodech je třeba stanovit kritické limity [40]. O sledování je třeba vést a uchovávat evidenci [39];
- e) stanovení nápravných opatření – pokud se sledováním kritických bodů vysleduje, že některá vína byla vyrobena v nezvládnutém stavu je nutno stanovit nápravná opatření [41];

- f) dále je nutno systém založený na principech HACCP pravidelně podrobovat přezkoumání jeho funkčnosti a aktuálnosti, hlavně při každé změně výrobku, procesu nebo fáze, a tyto změny do systému zapracovat [39].

5 CÍL PRÁCE

Cílem praktické části bakalářské práce bylo provést mikrobiologický rozbor (stanovení kvasinek, plísní a celkového počtu aerobních bakterií) a vyhodnotit mikrobiologickou kvalitu 243 vzorků červených a 340 vzorků bílých vín vyráběných v Moravských vinařských závodech Bzenec s.r.o. v období jednoho roku.

PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Vzorky vína

Pro tuto práci byly použity vzorky bílých a červených vín vyrobené v Moravských vinařských závodech Bzenec s.r.o. v období 1. 10. 2009 – 31. 9. 2010. Z bílých vín byly v analyzovaném materiálu zastoupeny odrůdy Chardonnay, Müller Thurgau, Muškát moravský, Rulandské bílé, Rulandské šedé, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský, Sauvignon, Tramín červený a Veltlínské zelené. Z červených vín to byly odrůdy André, Frankovka, Merlot, Modrý portugal, Rulandské modré, Svatovavřínecké a Zweigeltrebe. Všechny tyto vzorky byly podrobeny mikrobiologickému rozboru v laboratořích Moravských vinařských závodů Bzenec s.r.o.

6.2 Mikrobiologický rozbor

Pro stanovení mikrobiologické kvality hotových vín byla použita membránová filtrační metoda. Tato metoda stanovení spočívá v oddělení kvasinek a jiných mikroorganismů z vína filtrací přes membránu s velikostí pórů 0,45 μm . Membrána se zachycenými mikroorganismy byla vložena na agarovou živnou půdu v Petriho misce [26]. Kultivace byla provedena v termostatu BT 120 (laboratorní přístroje Praha, Česká republika) při teplotě 28 °C 2 - 3 dny. Živné půdy, používané pro kultivaci mikroorganismů musí vyhovovat všem nárokům příslušného mikroorganismu na výživu, pH, osmotický tlak a další fyzikálně – chemické podmínky [42]. Pro stanovení celkového počtu aerobních bakterií byl použit masopeptonový agar s laktózou, pro stanovení celkového počtu kvasinek a plísní pak sladidinový agar. Oba druhy živných půd jsou dodávány již připravené firmou Agro-LA spol. s r. o., Česká republika.

Na stanovení počtu životaschopných buněk byla použita nepřímá metoda, která spočívá v počítání viditelných makroskopických kolonií vyrostlých na agarových plotnách. Metoda vychází z předpokladu, že z jedné životaschopné buňky vyroste jedna kolonie. Počet buněk se pak přepočítá na objemovou jednotku 100 ml vína [43].

Samotný proces výroby vína končí nalahvováním vína na stáčecí lince, zde se před samotným stáčením do lahví víno podrobuje závěrečné filtraci. Používají se filtrační zařízení typu mikrofiltr o velikosti pórů 0,45 μm pro bílá vína a oenoclear o velikosti pórů 0,8 μm pro červená vína k zachycení mikroorganismů, které by mohly samotný hotový

výrobek znehodnotit svou případnou mikrobiální činností. V Moravských vinařských závodech Bzenec s. r. o. byly odebírány vzorky hotových výrobků červených a bílých vín a vizuálně posuzovány po kultivaci. Po případném nárůstu buněk na agarových plotnách byly zjišťovány počty buněk z pohledu celkového počtu bakterií, kvasinek a plísní. Vzorky byly následně vyhodnoceny jako negativní, pozitivní nepřekračují limit v počtu mikroorganismů, tím pádem by nemělo dojít při správném způsobu skladování k masivnímu nárůstu mikroorganismů, které by mohly výrobek znehodnotit. Jako poslední variantou vyhodnocení je pozitivní s překročeným limitem množství mikroorganismů. Jelikož monitoring mikrobiologické kvality hotových výrobků nepatří v tomto podniku mezi kritické kontrolní body systému HACCP a také z důvodu, že víno je mikrobiologicky neriziková potravina, dle ČSN 56 9606 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny, u které by bylo nutno sledovat výskyt a počty mikroorganismů, byla vypracována interní směrnice pro postup a provádění tohoto monitoringu, jehož součástí je také maximální přípustné množství jednotlivých mikroorganismů ve 100 ml hotového výrobku. Množství mikroorganismů, které se může ve výrobku vyskytovat, aniž by způsobilo zhoršení kvality výsledného vína, je výsledkem dlouholetého pozorování, které bylo prováděno provozní laboratoří tohoto podniku. Z pozorování pak byly vytvořeny mezní hodnoty pro celkový počet bakterií a kvasinek v hotových výrobcích, které nesmí překročit 100 kolonií a pro plísně je to 10 kolonií. Při překročení těchto limitů je celá šarže uložena do inkubačního skladu, kde je sledována po dobu jednoho měsíce, při teplotě 20 °C, která je pro vína jako hotový výrobek kritická z pohledu potenciálně možného pomnožení mikroorganismů. Pokud po této době nedojde ke změně organoleptických vlastností jako je zákal, tvorba sedliny nebo změna chutě, způsobených přítomnými mikroorganismy a jejich činností, je tato šarže vyhodnocena jako nezávadná a vyexpedována jako vyhovující. V případě, že jsou tyto vlastnosti změněny, je celá tato šarže podstoupena k dalším rozborům, popřípadě je šarže zlikvidována.

V této interní směrnici je také stanoveno, že celkové množství vzorků, které překračují mezní limit pro bakterie, kvasinky a plísně by neměl přesáhnout 10 % z celkového počtu vzorků za jeden rok.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Mikrobiologickému rozboru bylo podrobena celkem 340 vzorků bílých vín a 243 vzorků červených vín. Ve vzorcích hotových výrobků byly po závěrečné filtraci a nalahvování zjišťovány počty kvasinek, plísní a celkového počtu aerobních bakterií.

7.1 Sledování výskytu kvasinek

Kvasinky byly kultivovány na sladínovém agaru, který je svým pH a množstvím uhlíkatého zdroje vhodný pro jejich izolaci.

Z celkového počtu 340 vzorků bílých vín bylo zjištěno překročení mezního limitu daného vnitřní směrnici pro kvasinky u 15 vzorků, což je 4,2 % za celé monitorovací období. U červených vín bylo vyhodnocováno 243 vzorků, zde byl překročen mezní limit pro kvasinky u 22 vzorků, což je 9,0 % z celkového množství vzorků. Tento vysoký počet kontaminovaných vzorků kvasinkami u červených vín může být způsoben nedostatečně účinnou filtrací před lahvováním, vlivem postupného zanášení filtru kvasinkami, které jsou posléze vysokým tlakem čerpadla protlačovány přes filtry do vína, jelikož se u červených odrůd vín používají filtrační zařízení s větší velikostí pórů, než je tomu u bílých vín. Menší velikost pórů filtračního zařízení by u červených vín způsobovala zachycení nejen kvasinek a ostatních mikroorganismů, ale také barviva, která červené víno obsahuje, což by se odrazilo na finální kvalitě vína po sensorické stránce. Jednotlivé hodnoty získané měřeními jsou uvedeny v Tabulce 1 a 2. Na Obrázku 1 a 2 jsou tyto výsledky znázorněny graficky a uvádí počet kontaminovaných vzorků kvasinkami v jednotlivých kvartálních obdobích v porovnání s celkovým množstvím vzorků v těchto obdobích.

Nejvyšší počet kontaminovaných vzorků, bez ohledu na limit daný vnitřní směrnici, byl u bílých vín zjištěn v období leden - březen (Tabulka 1), kdežto u červených vín tomu tak bylo v období červenec – září (Tabulka 2). Důvodem může být zejména v období leden – březen kontaminace ovzduší kvasinkami, které jsou součástí kvasících moštů a mladých vín. Z nich se mohou dostávat do ovzduší provozu, kde posléze působí jako kontaminanty zejména v prostoru lahvovery.

Tab. 1. Vyhodnocení výskytu kvasinek ve vzorcích bílých vín

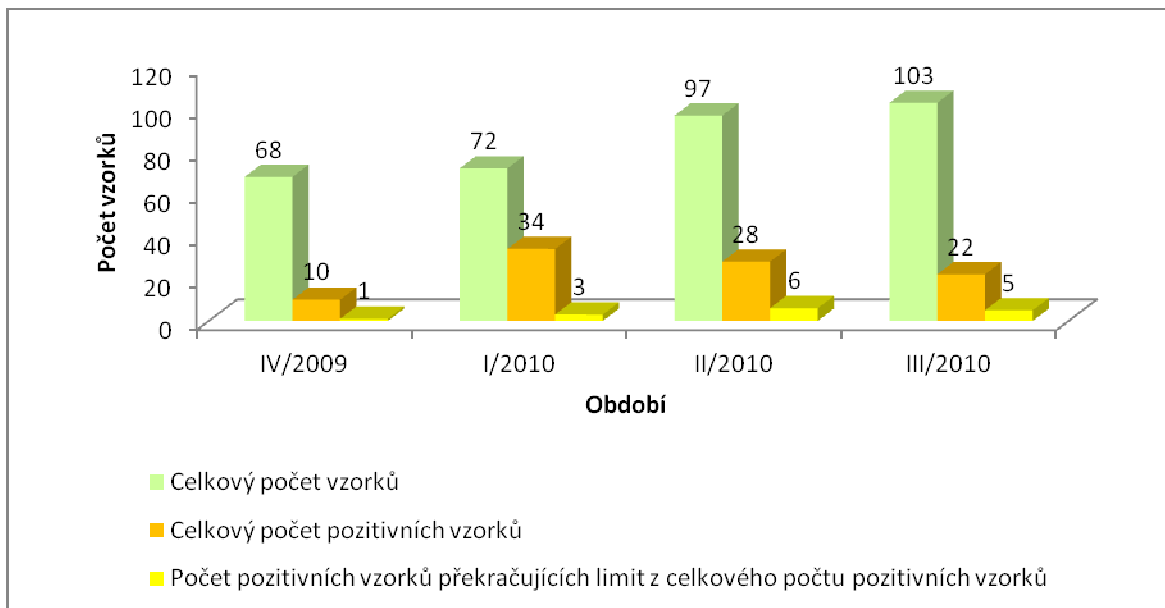
Odrůda	Období											
	IV. (10/2009 - 12/2009)			I. (1/2010 - 3/2010)			II. (4/2010 - 6/2010)			III. (7/2010 - 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
Char	1	0	0	3	1	0	6	2	1	4	1	0
MM	4	0	0	1	1	0	5	2	1	4	0	0
MT	23	7	1	28	15	2	30	6	2	26	7	2
RB	6	2	0	5	2	0	8	2	0	8	3	1
RR	3	0	0	1	1	0	1	1	0	5	0	0
RV	2	0	0	4	2	0	5	1	0	9	0	0
RŠ	3	0	0	1	1	0	1	0	0	5	3	2
Svg	1	0	0	3	2	0	7	1	0	8	2	0
TČ	3	1	0	6	2	0	6	3	0	7	2	0
VZ	22	0	0	20	7	1	28	10	2	27	4	0
Celkem:	68	10	1	72	34	3	97	28	6	103	22	5
% překračující limit:			1,5	4,2			6,2			4,9		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III a IV období:										4,2		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, Char – Chardonnay, MM – Muškát moravský, MT – Müller Thurgau, RB – Rulandské bílé, RR – Ryzlink rýnský, RV – Ryzlink vlašský, RŠ – Rulandské šedé, Svg – Sauvignon, TČ - Tramín červený, VZ – Veltlínské zelené

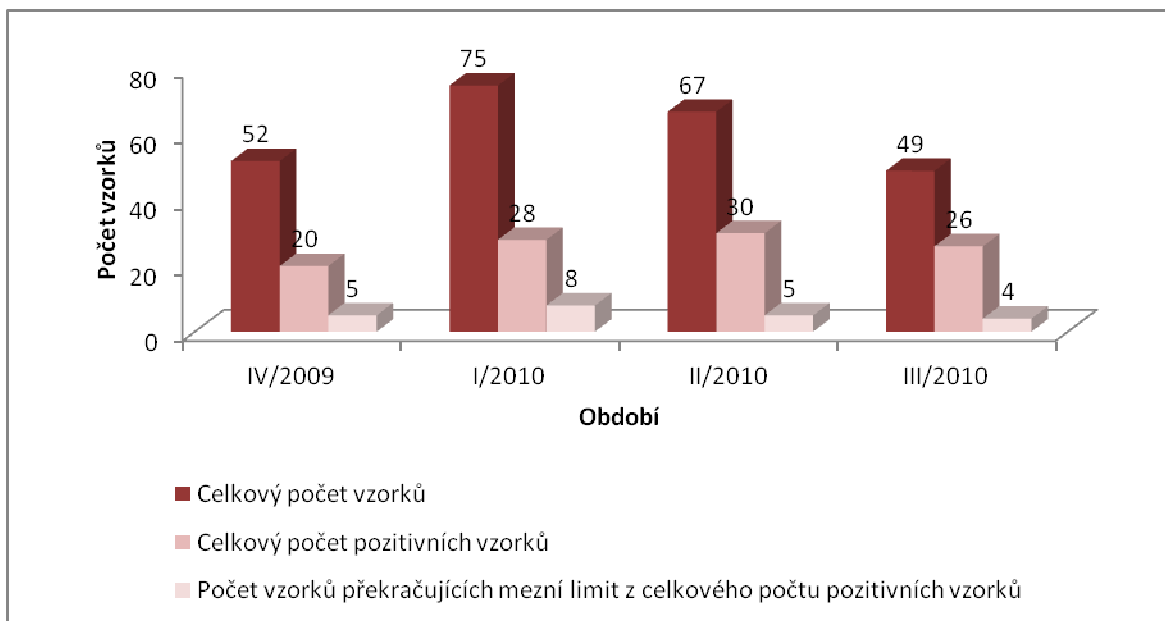
Tab. 2. Vyhodnocení výskytu kvasinek v hotových výrobcích červených vín

Odrůda	Období											
	VI. (10/2009 – 12/2010)			I. (1/2010 – 3/2010)			II. (4/2010 – 6/2010)			III. (7/2010 – 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
And	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Fr	24	10	4	38	12	6	36	15	3	27	13	4
Mer	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
MP	10	3	0	10	7	0	5	3	0	7	5	0
RM	3	1	0	4	3	0	3	1	0	1	1	0
SV	13	5	1	21	5	2	21	9	2	9	6	0
ZW	2	1	0	2	1	0	1	1	0	4	1	0
Celkem	52	20	5	75	28	8	67	30	5	49	26	4
% překračující limit			9,6	10,7			7,5			8,2		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III a IV období										9,0		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, And – André, FR – Frankovka, Mer – Merlot, MP – Modrý portugal, RM – Rulandské modré, SV – Svatovavřínecké, ZW - Zweigeltrebe



Obr. 1. Počet kontaminovaných vzorků kvasinkami u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích.



Obr. 2. Počet kontaminovaných vzorků kvasinkami u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích.

Mezi potenciální kontaminanty vína z pohledu kvasinek [15, 26] patří kvasinky rodu *Saccharomyces*, které se po skončení alkoholového kvašení moštu považují, podobně jako ostatní rody a druhy kvasinek a kvasinkových mikroorganismů, za kontaminační a vzhledem na kvalitu budoucího hotového produktu škodlivé. Předpokladem rozmnožení kvasinek je zbytkový cukr vína. Existuje přímá závislost mezi počtem kvasinek a kvantitativním složením kvasinkové flóry na jedné straně a stabilitou vína na straně druhé. Z asporogenních druhů kvasinek se může v hotovém výrobku vyskytovat zejména *S.oviformis* a *S. cerevisiae*, které jsou velmi dobře přizpůsobivé prostředí a odolné proti vzniklému alkoholu. V sudových a občas i v nalahvovaných vínech s vyšším množstvím zbytkového cukru vyvolávají druhotné kvašení a s tím spojené zákalý [25]. Dalšími zástupci kvasinek, které se mohou v nalahvovaných vínech vyskytovat jsou druhy s více nebo méně striktním aerobním metabolismem (*C. vini*, *C. zeylanoides*, *H. anomala*, *Pichia* sp.), často také označované jako pravé kontaminanty zařízení, které zodpovídají hlavně za křisovatění mladých vín. Původci zákalů nalahvovaných vín jsou nejčastěji fruktofilní, osmotolerantní a zčásti chemorezistentní *S. bailii* var. *bailii*. Nejčastějším zdrojem kontaminace bývá strojově - technologické zařízení plnicí linky. Přenašečem kontaminace, nebo i přímým zdrojem infekce může být personál pracující na této lince. Mezi časté příčiny a prameny kvasinkových kontaminací patří mechanické defekty na myčce, defektní armatury nebo selhání filtračních svíček. Dalším zdrojem kontaminace může být i zátkovač nebo plnič (plnicí ventily, jehly plniče) [26].

7.2 Sledování výskytu plísní

Plísně byly sledovány spolu s kvasinkami na sladivém agaru. Z Tabulky 3 a 4, následně pak na Obrázku 3 a 4 je znázorněno, že množství plísní je v hotových výrobcích jak u bílých vín, tak u červených vín nízké. U vzorků bílých vín došlo k překročení mezního limitu u 2,7 % (9 vzorků), v případě červených vín byl mezní limit překročen u 8 vzorků, v přepočtu na procenta u 3,1 % všech posuzovaných vzorků. Důvodem nízkého zastoupení plísní v hotových výrobcích je fakt, že vzdušné epifyty většinou nejsou nebezpečné, protože jsou málo rezistentní proti alkoholu a ve víně se dále jen zřídka vyvíjejí, např. *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Sporobolomyces* a *Debaryomyces* sp. [26]. Zdrojem kontaminace plísní jsou např. znečištěné láhve, podlaha, stěny, hadice, které se po použití ihned neočistí. Ze zbytků vína pak nastává důsledkem přístupu vzdušného kyslíku rozmnožení hyfových hub. Častým zdrojem kontaminace plísněmi bývají

také korkové zátky kontaminované spórami mikroskopických hub rodu *Penicillium* a *Aspergillus* [28].

Nejvyšší počet kontaminovaných vzorků plísněmi, bez ohledu na limit daný vnitřní směrnici, byl jak u bílých, tak i u červených vín zjištěn v období leden - březen (Tabulka 3 a 4). Z těchto výsledků nelze usuzovat na jakoukoli souvislost mezi kontaminací vín plísněmi a ročním obdobím.

Tab. 3. Vyhodnocení výskytu plísní ve vzorcích bílých vín

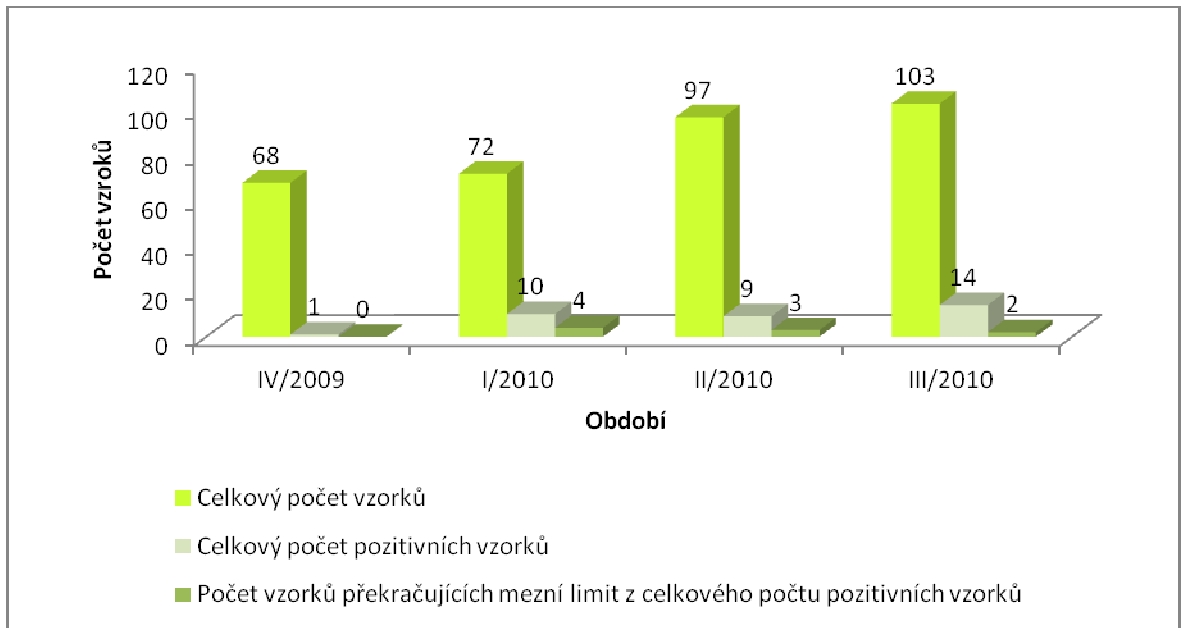
Odrůda	Období											
	IV. (10/2009 – 12/2009)			I. (1/2010-3/2010)			II. (4/2010 – 6/2010)			III. (7/2010 – 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
Char	1	0	0	3	1	1	6	0	0	4	0	0
MM	4	0	0	1	0	0	5	0	0	4	0	0
MT	23	1	0	28	5	0	30	4	1	26	4	0
RB	6	0	0	5	1	1	8	0	0	8	4	1
RR	3	0	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0
RV	2	0	0	4	0	0	5	1	1	9	2	0
RŠ	3	0	0	1	0	0	1	0	0	5	1	0
Svg	1	0	0	3	1	1	7	0	0	8	2	1
TČ	3	0	0	6	0	0	6	1	1	7	0	0
VZ	22	0	0	20	2	1	28	3	0	27	1	0
Celkem	68	1	0	72	10	4	97	9	3	103	14	2
% překračující limit			0	5,6			3,1			1,9		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III, IV období										2,7		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, Char – Chardonnay, MM – Muškát moravský, MT – Müller Thurgau, RB – Rulandské bílé, RR – Ryzlink rýnský, RV – Ryzlink vlašský, RŠ – Rulandské šedé, Svg – Sauvignon, TČ - Tramín červený, VZ – Veltlínské zelené

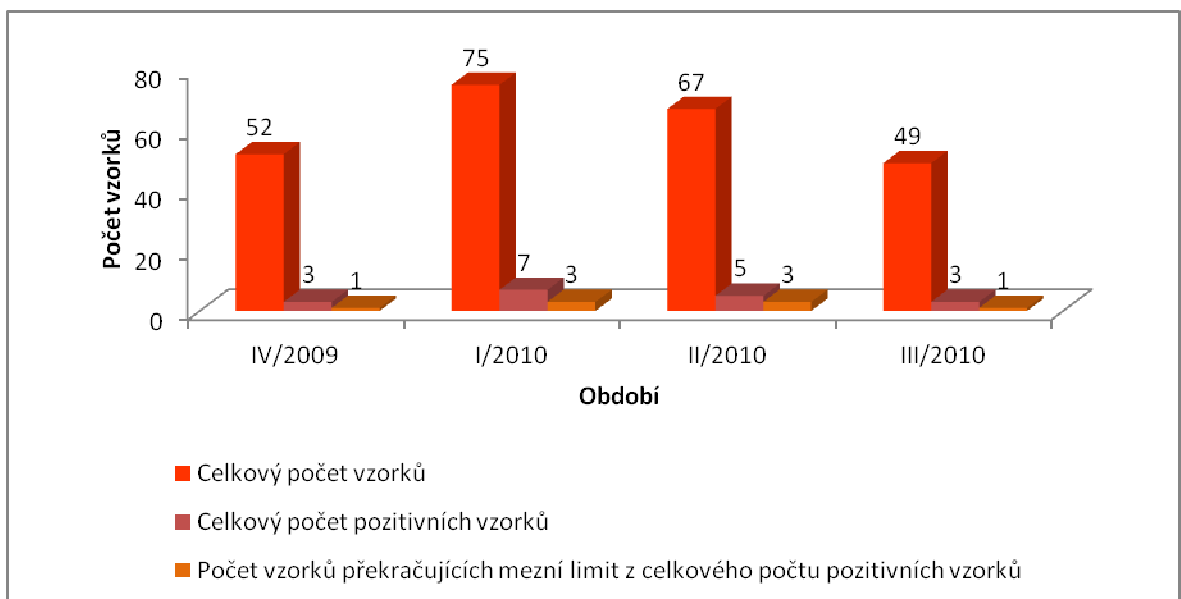
Tab. 4. Vyhodnocení výskytu plísní ve vzorcích červených vín

Odrůda	Období											
	IV. (10/2009 – 12/2009)			I. (1/2010 – 3/2010)			II. (4/2010 – 6/2010)			III. (7/2010 – 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
And	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Fr	24	1	0	38	4	1	36	3	3	27	1	0
Mer	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
MP	10	0	0	10	0	0	5	0	0	7	0	0
RM	3	0	0	4	0	0	3	0	0	1	1	0
SV	13	2	1	21	3	2	21	2	0	9	0	0
ZW	2	0	0	2	0	0	1	0	0	4	1	1
Celkem	52	3	1	75	7	3	67	5	3	49	3	1
% překračující limit			1,9	4,0			4,5			2,0		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III, a IV období										3,1		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, And – André, FR – Frankovka, Mer – Merlot, MP – Modrý portugal, RM – Rulandské modré, SV – Svatovavřínecké, ZW – Zweigeltrebe.



Obr. 3. Počet kontaminovaných vzorků plísněmi u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích



Obr. 4. Počet kontaminovaných vzorků plísněmi u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích

7.3 Sledování výskytu bakterií

Celkový počet aerobních bakterií byl sledován na masopeptonovém agaru s laktózou. Jak uvádí Tabulka 5 a 6, byl mezní limit pro bakterie překročen u 8 vzorků bílých vín, tzn. 2,4 % z 340 vzorků bílých vín a u 10 vzorků červených vín, což je 3,9 % z celkového počtu 243 vzorků červených vín. U bílých vín byl počet kontaminovaných vzorků, bez ohledu na limit daný vnitřní směrnici, vyšší zejména v prvním kvartálním období. U červených vín byl tento počet vyšší v prvním i druhém kvartálním období z důvodu vyššího výskytu homofermentativních bakterií mléčného kvašení, které jsou hlavně u červených vín zodpovědné za odbourávání kyseliny jablečno-mléčné v mladých vínech. Dále je možno také opět usuzovat na nedostatečnou hygienu při lahvování nebo na nedostatečně účinnou filtraci před lahvováním. Počet kontaminovaných vzorků bakteriemi v porovnání s celkovým počtem vzorků je uveden na Obrázku 5 a 6.

Hotové víno je proti bakteriální činnosti zčásti chráněné vyšší koncentrací volného oxidu siřičitého a nižším pH [1]. Ve víně se mohou vyvíjet jen grampozitivní mléčné a gramnegativní octové bakterie. Anaerobní mléčné bakterie, homofermentativní i heterofermentativní, jsou považovány po skončení bakteriálního odbourávání kyselin za kontaminanty vína [25]. Výskyt aerobních octových bakterií je v hotovém výrobku méně častý. Jejich výskyt je známkou nedostatečné hygieny sklepů, lahvoven, ostatního zařízení, které přichází do styku s lahvovaným vínem a známkou neadekvátní techniky ošetřování a školení vína [26].

Tab. 5. Vyhodnocení výskytu bakterií ve vzorcích bílých vín

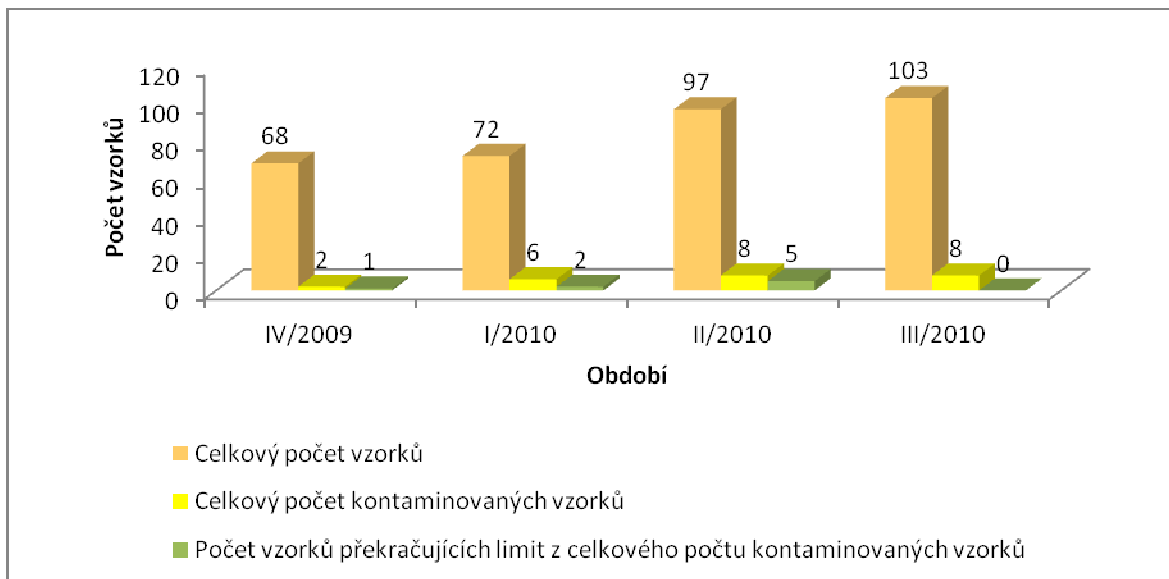
Odrůda	Období											
	IV. (10/2009 – 12/2009)			I. (1/2010 – 3/2010)			II. (4/2010 – 6/2010)			III. (7/2010 – 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
Char	1	0	0	3	0	0	6	1	1	4	0	0
MM	4	0	0	1	0	0	5	1	0	4	0	0
MT	23	2	1	28	1	1	30	2	2	26	1	0
RB	6	0	0	5	1	0	8	0	0	8	1	0
RR	3	0	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0
RV	2	0	0	4	0	0	5	1	0	9	2	0
RŠ	3	0	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0
Svg	1	0	0	3	0	0	7	0	0	8	1	0
TČ	3	0	0	6	1	0	6	1	0	7	0	0
VZ	22	0	0	20	3	1	28	2	2	27	3	0
Celkem	68	2	1	72	6	2	97	8	5	103	8	0
% překračující limit			1,5	2,8			5,2			0		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III, IV období										2,4		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, Char – Chardonnay, MM – Muškát moravský, MT – Müller Thurgau, RB – Rulandské bílé, RR – Ryzlink rýnský, RV – Ryzlink vlašský, RŠ – Rulandské šedé, Svg – Sauvignon, TČ - Tramín červený, VZ – Veltlínské zelené

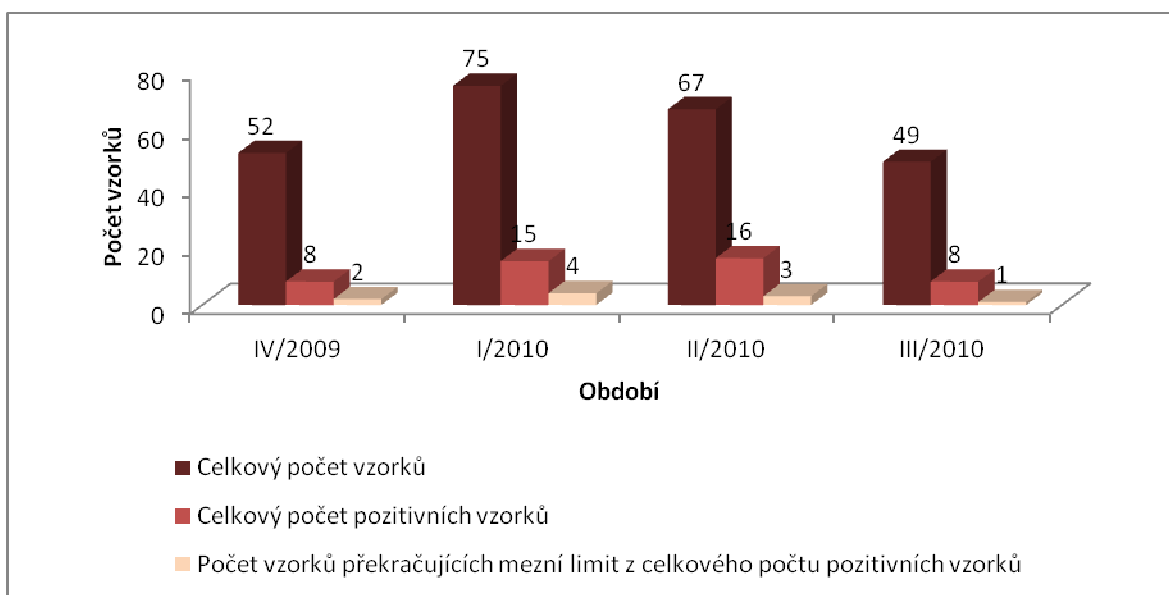
Tab. 6. Vyhodnocení výskytu bakterií ve vzorcích červených vín

Odrůda	Období											
	IV. (10/2009 – 12/2009)			I. (1/2010 – 3/2010)			II. (4/2010 – 6/2010)			III. (7/2010 – 9/2010)		
	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL	CP	P	PL
And	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Fr	24	5	1	38	6	2	36	10	2	27	3	1
Mer	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
MP	10	0	0	10	3	1	5	0	0	7	2	0
RM	3	1	0	4	1	0	3	0	0	1	0	0
SV	13	2	1	21	5	1	21	6	1	9	1	0
ZW	2	0	0	2	0	0	1	0	0	4	1	0
Celkem	52	8	2	75	15	4	67	16	3	49	8	1
% překračující limit			3,8	5,3			4,5			2,0		
Celkový průměrný % obsah překračující limit za I, II, III, IV období										3,9		

Vysvětlivky: CP – celkový počet vzorků, P – počet pozitivních vzorků, PL – počet vzorků překračujících limit, And – André, FR – Frankovka, Mer – Merlot, MP – Modrý portugal, RM – Rulandské modré, SV – Svatovavřínecké, ZW – Zweigeltrebe.



Obr. 5. Počet kontaminovaných vzorků bakteriemi u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích



Obr. 6. Počet kontaminovaných vzorků bakteriemi u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích

ZÁVĚR

Každé víno může obsahovat mikroorganismy. Metabolismus a rozmnožování mikroorganismů, a s nimi spojený vznik různých chorob a vad, je obzvláště nežádoucí v hotových nalahvovaných vínech. Mikroorganismy způsobující mikrobiologické zákaly vína jsou zejména kvasinky rodu *Saccharomyces*, dále kožotvorné kvasinky rodu *Candida*, ale i rodu *Torulopsis* a *Pichia*. K nežádoucím kontaminantům však patří hlavně bakterie mléčného kvašení rodu *Leuconostoc* a *Lactobacillus*, octové bakterie a jiné. Činnost octových bakterií a ostatních druhů aerobních mikroorganismů je v lahvích velmi inhibována v důsledku nedostatku kyslíku, přítomností alkoholu a oxidu siřičitého. Mikrobiologické zákaly vína vznikají z rozličných příčin. Kromě činnosti původní mikroflóry vína, nedostatečně odstraněné filtrací, mohou vznikat v důsledku nesterilního plnění vína do lahví, kontaminací z nedostatečně opláchnutých lahví nebo nesterilních korkových zátek.

Cílem bakalářské práce byl monitoring mikrobiologické kvality vín. K analýze bylo použito 340 vzorků bílých vín a 243 vzorků červených vín. Všechna tato vína byla vyrobena a podrobena mikrobiologickým rozborům v Moravských vinařských závodech Bzenec s.r.o. v období jednoho roku. Pro stanovení mikrobiologické kvality nalahvovaných vín byla použita membránová filtrační metoda. Po kultivaci byly vyhodnocovány celkové počty kvasinek, bakterií a plísní. Protože v současné době neexistuje žádná legislativní norma, či předpis, který by upravoval maximálně přípustná množství mikroorganismů v hotových výrobcích vína, byla touto firmou vypracována interní směrnice, která tyto maximální přípustná množství mikroorganismů stanovuje. Ve směrnici jsou obsaženy nejen maximální množství jednotlivých mikroorganismů na 100 ml vína, ale je zde stanoveno i maximální přípustné množství hotových výrobků kontaminovaných mikroorganismy, které by nemělo překročit 10 % ročně.

Nejčastěji byla všechna vína kontaminována kvasinkami, dále bakteriemi a nejméně plísněmi. Z provedených rozborů vyplývá, že bílá vína jsou po mikrobiologické stránce stabilní, jelikož procentuální množství kontaminovaných vzorků je z pohledu všech mikroorganismů v průměru do 5 % za monitorované období, čili jeden rok. U červených vín se množství kontaminovaných vzorků kvasinkami blíží hranici 10 %, tudíž by měla být provedena detailnější analýza, z jakého důvodu dochází k většímu výskytu kvasinek v červených vínech. Z pohledu bakterií a plísní jsou i červená vína po stránce

mikrobiologické stabilní, protože i zde je procentuální množství kontaminovaných vzorků pod hranicí 5 %.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FARKAŠ, J. *Technológia a biochémia vína*. Bratislava: Alfa, 1973. 776 s.
- [2] MCGOVERN, P., E. *Ancient wine: The search for the origins of viniculture*. Princeton University Press. 2003, s. 487 – 488, ISBN 0-691-07080-6.
- [3] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Zlín: UTB, 2009. 129s. ISBN 978-80-7318-478-4.
- [4] KRAUS, V., KUTTELVAŠER, Z., VURM, B. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Knižní klub, 1997. 223s. ISBN 80-7176-845-6.
- [5] CALLEC, CH. *Velká encyklopedie vína*. Praha: Rebo productions, 2002. 512s. ISBN 80-7234-245-2.
- [6] DOHNAL, T., KRAUS, V. *Pěstování révy a zužitkování hroznů*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1972. 252 s.
- [7] PÁTEK, J. *Zrození vína*. Brno: CP books, 1998. 248 s. ISBN 80-7242-039-9.
- [8] KONEČNÝ, V. a kol. *O víně trochu jinak aneb zapomenuté recepty ovocných vín*. Vip-art, 1997. 100 s.
- [9] NIKLOVÁ, D. *Reklamní brožura firmy Víno Bzenec a.s.* Zlín: Studio image 2000, 1994. 12s.
- [10] HANÁK, J. *Paměti města Bzence*. Brno: Grafex, 1999. 210 s. ISBN 80-238-4264-X.
- [11] DOLEŽAL, V. *Víno a zdraví* [online]. [cit. 2011-22-1]. Dostupné z WWW: <<http://www.gastro-server.com/jpz/pagepiti/vinoazdravi.php>>
- [12] KRAUS, V., HUBÁČEK, V., ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. Praha: Nakladatelství Brázda, 2004. 268 s. ISBN 80-209-0327-5.
- [13] KRAUS, V., KOPEČEK, J. *Setkání s vínem*. Praha: Radix, 2002. 158 s. ISBN 80-86031-36-5.
- [14] BAKER, H. *Kapesní průvodce po vinařských oblastech a vínech České republiky*. Praha: News letter, 2007. 384s. ISBN 80-7350-071-X-K.
- [15] GAVORNÍK, A. *Spracovanie hrozna*. Bratislava: Príroda, 1976. 387 s.

- [16] *Miniatlas mikroorganismů* [online]. [cit. 2011-15-2]. Dostupné z WWW: <<http://www.sci.muni.cz/mikrob/Miniatlas/mikr.htm>>
- [17] FUGELSANG, K. C., EDWARDS, C. *Wine microbiology: Practical applications and procedures*. New York: Springer-Verlag New York Inc., 2007. 393 s. 038733341X. [online]. [cit. 2011-11-3] Dostupné z WWW: <<http://www.springerlink.com/content/978-0-387-33349-6>>
- [18] DUDAŠ, F., a kol. *Skladování a zpracování rostlinných výrobků*. Praha, 1981. 89 s.
- [19] FLEET, G., H. Yeasts interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 2003.s. 11 – 22.
- [20] RIBÉREAU-GAYON, P. et. al. *Handbook of enology. Volume 1: Microbiology of wine and vinifications*. England: Chichester, 2000. 481 s. ISBN 0-471-97362-9.
- [21] BOULTON, B., SINGLETON, V. L., BISSON, L. F., KUNKEE, R. E. *Principles and practices of wine making*. New York: Chapman and Hall, 1996. 586 s. ISBN 0-412-06411-1.
- [22] STEVENSON, T. *101 praktických rad – víno*. Praha: Ikar, 1998. 71 s. ISBN 80-7202-377-2.
- [23] JACKSON, R. S. *Wine science: principles and applications*. London: Elsevier Inc., 2008. 731 s. ISBN 978-0-12-373646-8.
- [24] ALEXANDRE, H., COSTELO, P. J., REMIZE, F., GUZZO, J., GUILLOUX-BENATIER, M. *Saccharomyces cerevisiae – Oenococcus oeni interactions in wine: current knowledge and perspectives*. *International Journal of Food Microbiology*, 2004. s. 141 – 154.
- [25] KOVÁČ, J., a kol. *Spracovanie hrozna*. Bratislava: Príroda, 1990. 393 s. ISBN 80-07-00313-4.
- [26] MINÁRIK, E., NAVARA, A. *Chémia a mikrobiológia vína*. Bratislava: Príroda, 1986. 560 s.
- [27] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN 8-85605-71-6.

- [28] KÖNIG, H., UNDEN, G., FRÖHLICH, J. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine*. Heidelberg: Springer, 2009. 513 s. ISBN 978-3-540-85462-3.
- [29] NOVÁKOVÁ, V., ROUSKOVÁ, A. *Mikrobiologie pro 2. ročník učebního oboru Biochemik pro lihovarskou výrobu a výrobu vína*. Praha, 1991. 45 s. ISBN 80-85120-21-6.
- [30] MALÍK, F., MINÁRIK, E. *Lihovarnictvo, droždiarstvo, vinárstvo: Vinárstvo*. Bratislava: Ediční středisko SVŠT, 1983. s. 3 – 123.
- [31] KOCKOVÁ – KRATOCHVÍLOVÁ, A., KUTKOVÁ, M. *Atlas kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1961. 348 s.
- [32] ŠVEJCAR, V., MINÁRIK, E. *Vinařství – Mikrobiologie hroznů a vína*. Brno: Vysoká škola zemědělská. 99 s.
- [33] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. Tábor: Osis, 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [34] PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Praha: Grada Publishing, 2006. 96 s. ISBN 80-247-1247-4.
- [35] FARKAŠ, J. *Biotechnológia vína*. Bratislava: Alfa, 1983. 978 s.
- [36] STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4.
- [37] REINHARD, E., a kol. *Vady vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. 263s. ISBN 80-903201-6-3.
- [38] ANONYM. *Co je HACCP* [online]. [cit. 2011-17-3]. Dostupné z WWW: <<http://www.poradenstvi-haccp.cz/co-je-haccp/>>
- [39] GLEICHOVÁ, P., LIŠKOVÁ I. *Stravování ve školních jídelnách*. Praha: Raabe, 2008. 1388 s.
- [40] KRÁLÍK, S. *Systém kritických bodů HACCP*. Brno: Konfirm, 2009. 37 s.
- [41] HLAVÁČEK, M. Systém HACCP při výrobě vína. *Vinařský obzor*. 2010. s. 584 – 585.

- [42] ŠILHÁNKOVÁ, L., DEMNEROVÁ, K. *Návody pro laboratoře z mikrobiologie*. Praha: VŠCHT, 1993. s. 93 – 103.
- [43] REVEL, G., MARTIN, N., PRIPIS-NICOLAU, L., LOUNVAD-FUNEL, A., BERTRAND, A. Contribution to the knowledge of malolactic fermentation influence on wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999. s. 47.

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Vyhodnocení výskytu kvasinek ve vzorcích bílých vín.....	33
Tab. 2. Vyhodnocení výskytu kvasinek v hotových výrobcích červených vín.....	34
Tab. 3. Vyhodnocení výskytu plísní ve vzorcích bílých vín.....	38
Tab. 4. Vyhodnocení výskytu plísní ve vzorcích červených vín.....	39
Tab. 5. vyhodnocení výskytu bakterií ve vzorcích bílých vín.....	42
Tab. 6. vyhodnocení výskytu bakterií ve vzorcích červených vín.....	43

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Počet kontaminovaných vzorků kvasinkami u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích.....	35
Obr. 2. Počet kontaminovaných vzorků kvasinkami u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích....	35
Obr. 3. Počet kontaminovaných vzorků plísněmi u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích.....	40
Obr. 4. Počet kontaminovaných vzorků plísněmi u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích.....	40
Obr. 5. Počet kontaminovaných vzorků bakteriemi u bílých vín v porovnání s celkovým počtem vzorků bílých vín v jednotlivých kvartálních obdobích.....	44
Obr. 6. Počet kontaminovaných vzorků bakteriemi u červených vín v porovnání s celkovým počtem vzorků červených vín v jednotlivých kvartálních obdobích.....	44