

DOKUMENTACE OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE

Ověřená technologie historického způsobu výroby vína pro danou oblast

Vinohradnictví a vinařství pro zachování a obnovu kulturní identity vinařských regionů na Moravě (DG16P02R017)

NAKI II – Program na podporu aplikovaného výzkumu a experimentálního vývoje národní a kulturní identity na léta 2016 až 2022



Vypracovali: doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D. doc. Ing. Jiří Sochor, Ph.D.

Zástupce organizace: doc. Dr. Ing. Alena Salašová

V Lednici dne 1. 4. 2020

výtisk č.

1	2	3
---	---	---

1. ZÁKLADNÍ ÚDAJE O OVĚŘENÉ TECHNOLOGII

Jazyk v originále		Čeština
Název	v orig	Ověřená technologie historického způsobu výroby vína pro danou oblast
	v aj	Proven technology of the historical method of wine production for the area
Anotace	v orig	Dokumentace se opírá o technologický reglement, který akcentuje hybridní technologii jakožto průnik historického postupu s inovativním biotechnologickým přístupem výroby vína. Jedná se o souhrn zjištěných historických postupů, nároků na suroviny, nároky na technické vybavení. Dále se prolíná historický postup s novým biotechnologickým postupem za využití terroir kvasinky, která byla izolována na historických lokalitách v rámci projektové činnosti. Získané izoláty byly testovány pomocí primární charakterizace, která popisuje fenotypovou deviaci izolátů. Vyselektované kultury s nejvyšším potenciálem dosáhnout terroir projevu byly aplikovány v laboratorním testování již pro historický postup výroby vína. Výsledná data z chemického a senzorního hodnocení vyrobených vín mezi sebou významně korelují. Senzorické hodnocení dokládá atraktivnost produktu a dosažení rozmanitého organoleptického standardu vína konkrétní oblasti.
	v aj	The documentation is based on a technological process that emphasizes hybrid technology as an intersection of a historical process with an innovative biotechnological approach to wine production. It is a summary of identified historical procedures, requirements for raw materials, requirements for technical equipment. Furthermore, the historical process is intertwined with the new biotechnological process using terroir yeast, which was isolated at historical localities as part of the project activities. The obtained isolates were tested by primary characterization, which describes the phenotypic deviation of the isolates. The selected cultures with the highest potential to achieve terroir expression have been applied in laboratory testing already for the historical process of wine production. The resulting data from the chemical and sensory evaluation of the wines produced are significantly correlated. Sensory evaluation demonstrates the attractiveness of the product and the achievement of a diverse organoleptic standard of wine in a particular area.

Autoři	Příjmení	Jméno	Titul	Podíl v %
1	Baroň	Mojmír	doc., Ing., Ph.D.	50
2	Sochor	Jiří	doc., Ing., Ph.D.	50
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

Podíl v % - uveďte podíl práce každého autora. Součet podílů musí být 100%. Případné další autory uveďte na druhé straně.

2. VLASTNÍK OVĚŘENÉ TECHNOLOGIE

Název organizace (vlastníka)	Sídlo vlastníka	Stát vlastníka	Rok dokončení	Interní identifikace
Ústav vinohradnictví a vinařství (ZF MENDELU)	Valtická 337 691 44 LEDNICE	ČR	2020	NAKI-OT-01

Interní identifikace - označení produktu vlastníkem.

3. POPIS OVĚŘENÉ TECHNOLOGIE

Umístění	Technické parametry	Ekonomické parametry	Licence	Poplatek
Experimentální sklep Ústavu vinohradnictví a vinařství (ZF MENDELU) Valtická 337, Lednice 691 44	Inovativní hybridní technologie spojuje historický a nový biotechnologický přístup.	Licence k ověřené technologii je ceněna na 100 tis. Kč	1	3 [*]

Umístění – v experimentálním sklepe Ústavu vinohradnictví a vinařství. Technické parametry - tech. parametry charakterizující výstup (např. velikost, typ instalace, jazyk, platforma apod.). Ekonomické parametry - ekon. parametry charakterizující výstup (např. cena, export apod.).

Licence - uveďte jednu z možností využití výsledku jiným subjektem: 1-vždy nutné nabytí licence, 2-bez nabytí licence, 3-v některých případech možné bez nabytí licence. Poplatek – uveďte jednu z možností požadavku poskytovatele licence na licenční poplatek: 1-požaduje, 2-nepožaduje, 3-v některých případech nepožaduje.

* pro subjekty v rámci projektu Vinohradnictví a vinařství pro zachování a obnovu kulturní identity vinařských regionů na Moravě (DG16P02R017)

4. VZTAH OVĚŘENÉ TECHNOLOGIE K AKCÍM (GRANTŮM APOD.)

Typ vztahu	Typ akce	Název akce (uveďte alespoň část jejího názvu)	Interní číslo akce
1	G	NAKI II, ident. kód DG16P02R017 "Vinohradnictví a vinařství pro zachování a obnovu kulturní identity vinařských regionů na Moravě."	Číslo etapy: 10. Studium terroir kvasinek pro výrobu vína.

Typ vztahu - uveďte jednu možnost: 1 - vznikla v rámci, 2 - financována z, 3 - podkladem pro, 4 - podkladem pro výzk. záměr.

Typ akce - uveďte jednu z možností: VC – výzkumné centrum, G - grant, VZS - výzkumný záměr, SV - specifický výzkum.

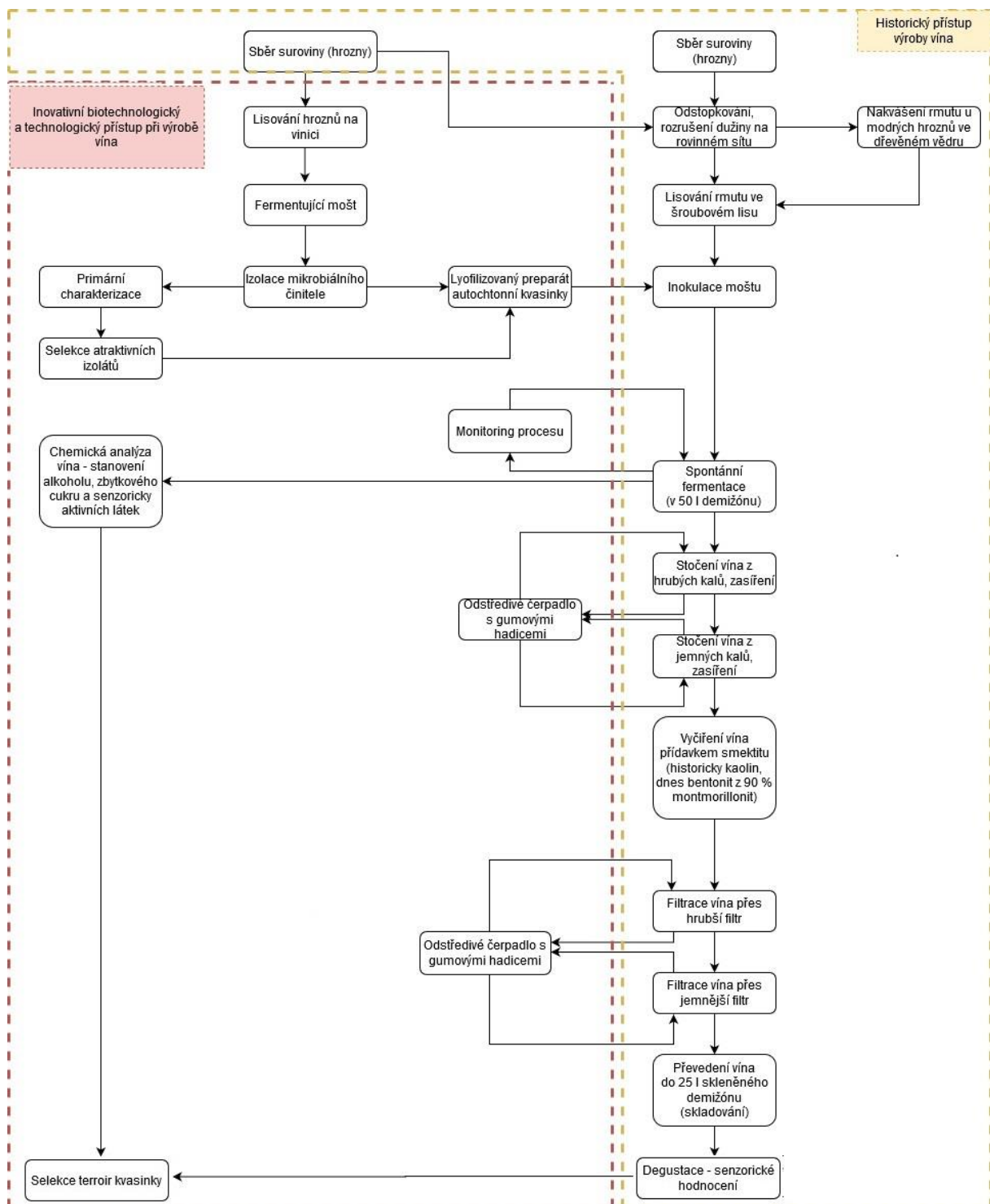
5. KLÍČOVÁ SLOVA

Česky:	terroir	autochtonní kvasinka	historický postup	vinifikace
Anglicky:	terroir	autochthonous yeast	historical procedure	vinification

Klíčová slova anglicky - může se vložit i sousloví (např. technický výraz). Doporučuje se vyplnit více než jen jednu kolonku.

6. TECHNICKÝ POPIS OVĚŘENÉ TECHNOLOGIE

Dokumentace popisuje kombinovanou vinařskou technologii, která podléhá historickému postupu výroby vína v oblasti Morava se současnou aplikací moderních biotechnologických postupů – řízené kvašení a monitoring průběhu. Pro zvýšení přehlednosti této technologie je její schématický obsah uveden na Obr. 1. Je kladen důraz na vstupní surovinu s výrazným vztahem k terroir a historicky vztaženým podmínkám, jako je frekvence výsadby jednotlivých odrůd v různých vinařských podoblastech. Vztah odrůdy k územnímu celku definovaného podložím a klimatickými podmínkami pro daný projev terroir. Dalšími kroky jsou zpracování hroznů pomocí historických postupů a dílčím krokům nezbytným pro výrobní proces vína. Historický postup se převážně opírá o dobu 19. a 20. století, kdy docházelo k mechanizaci technických zařízení, a tak k usnadnění lidské práce. Technické prostředky jsou hodnoceny v závislosti na dostupnosti a použitelnosti i v 21. století. Kromě toho se také dochovalo větší množství informací s možností aplikací jednotlivých náradí pro výrobu vína. Velmi unikátním prvkem v celé technologii je použití autochtonních kmenů kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, která byla izolována z historicky vytyčených viničních tratí. Kvasinkové kmeny byly podrobeny testům, které ověřily jejich fyziologické vlastnosti a testům, které sledovaly jejich fenotypový projev a technologické vlastnosti. Na základě získaných výsledků došlo k selekci vhodných kvasinkových kmenů pro možnou aplikaci při procesu řízené fermentaci. S cílem zvýraznit organoleptické vlastnosti dané odrůdy a zintenzivnit tak celkový sensorický charakter vína. Posledním procesem výroby je také vhodné uskladnění vína.



Obr. 1: Schéma hybridní technologie výroby vína podle historického technologického a inovativního biotechnologického přístupu.

7. TECHNOLOGIE

7.1 NÁROKY NA SUROVINU

Důležitými parametry hodnocení kvality suroviny jsou fyziologická a technologická zralost hroznů. K intenzivnímu monitoringu dochází v období sběru, tedy v měsících srpen až říjen. Fyziologická zralost bobulí se vyznačuje schopností vyklíčení semen, měkkostí bobule a zbarvením slupky. Při správné fyziologické zralosti bílého hroznů je možné pozorovat na bobulích průhlednou slupku, přes kterou jsou viditelná semínka. Důležitými parametry pro stanovení technologické zralosti jsou cukernatost (měla by být vyšší jak 19 °NM) a kyselost s pH. Cukernatost udává informaci o maximální dosažitelné koncentraci etanolu. Kyselost hroznů udává vývoj kyselin v průběhu zaměkávání a dozrávání hroznů a poměr mezi kyselinou vinnou a jablečnou, které později udávají charakter vína společně s aromatickými látkami. Nedílnou součástí je hodnota pH, na které úzce závisí přítomnost aromatických látek. Hodnota pH je také důležitá při použití vinařských suplementů, konkrétně SO₂. Velmi důležitým prvkem pro technologickou zralost je také senzorní hodnocení bobulí v období dozrávání. Vývoj aromatických látek se také odráží ve zbarvení slupky u bílých odrůd a u modrých odrůd podle barvy semen a bobule. Senzorickým hodnocením je vinař schopen odhadnout odraz terroir a vhodný čas sběru.

Každá vinice má svůj ekosystém, který je závislý na několika prvcích (podloží, svažitost terénu, geologické umístění, orientace vinice na světovou stranu a další), které jsou úzce propojeny s klimatickými podmínkami. Provázanost jednotlivých prvků udává terroir, jedinečnost a kvalitu každého vína. To kde se réva vinná nachází, ovlivňuje její růst a vývoj. Klima se rok od roku může měnit a s nimi také kvalita hroznů. Důležitým parametrem terroir, na kterém vysoce participuje vinohradnická činnost, jsou zelené práce ovlivňující mikroklima révy vinné.

7.1.1 Zelené práce

Zelené práce jsou historicky dochované agrokulturní činnosti, které se předávaly z generace na generaci. Pravidelně užívaným zemědělským náradím 19. století byly motyky, rýče, nosítka a povozy, které se zachovaly až dodnes. Ne všechny práce se provádějí stejně, většina prací je již prováděná agrotechnickými stroji, které výrazně urychlily práci na vinici.

Zelenými pracemi lze dosáhnout správně zalistěné plochy révy vinné. Keř je udržován v dobré fyziologické kondici a jednotlivé kroky zabránit rozvoji plísňovým onemocněním hroznů a listů či jiným nežádoucím škůdcům.

Listová plocha je důležitým základem pro produkci kvalitních hroznů. Pro dobře osluněnou plochu jsou prováděny činnosti jako upevňování letorostů do drátěnek (kdysi vyvazování letorostů po tyči), vylamování přebytečných a nežádoucích letorostů, tzv. osečkování (zakracování letorostů), vylamování zálistků v zóně hroznů a odlistění v zóně hroznů. Důležitým faktorem je také regulace hroznů na hlavu keře, pro projev terroir se udává 2,5 kg hroznů. Historicky se dochovala posloupnost starostí o odrůdy, které dozrávají dříve až po odrůdy, které dozrávají později.

U kmínků révy vinné se provádí čištění kmene, vinohradníci se zbavují nově narostlých mladých kmínků, které nepatří k hlavní kořenové soustavě keře. Tím je zajištěn vysoký přísun živin z půdy pro keř. Kromě kmínků je důležité ošetření okolní půdy ve vinici. Hnojení zajišťuje okolí keři výživu v podobě asimilovatelného dusíku důležitého pro tvorbu

aminokyselin a následný vývoj aromatických látek v hroznu (způsobující květinové a ovocné tóny ve víně činností kvasinek).

Druhým ekologickým způsobem může být ozeleňování řádků, aby nebyly řádky bez trávy a nevysychaly. Nasazením bobovitých rostlin do řádků bude vytvoření nejprůirozenějšího hnojení, jelikož bobovité rostliny jsou schopné vychytávat vzdušný dusík z jejich okolí a navracet ho zpět do půdy.

7.1.2 Půdní podmínky

Barvy půd indikují její orientační složení, a jaká odrůda révy vinné je pro ni vhodná. Půdy, které jsou světlé, mají vysoký podíl vápna a jsou vhodnější pro pěstování bílých odrůd. Půdy s vysokým podílem železa jsou načervenalé a s velkým podílem humusu se vyznačují tmavě hnědou barvou. Teorie, proč barva půd souvisí s odrůdou, se odvíjí od fyzikálních zákonů. Světlé půdy odrážejí více světla než tmavé. Jestliže půda na sebe přitahuje světlo, bude docházet také k jejímu vysychání a může se zde dařit především modrým hroznům. Zvýší se produkce antokyanových barviv a podpoří zrání tříslovin. V případě bílých hroznů by došlo k degeneraci aromatických látek a vína by byla hořká. Důvodem je dostupnost dusíku z půdy, tedy snížení využitelného asimilovatelného dusíku pro tvorbu aromatických látek.

S pojmem terroir se také pojí pojmy mineralita ve víně. Jestliže by byla mineralita původcem z půdy, měly by na ní vliv především ionty, které se nachází ve struktuře minerálů. Historicky důležitý fakt, že se minerály v mateční hornině vyskytují odjakživa a trvá velmi dlouho dobu, než dojde k jejich narušení, aby se ionty mohly uvolnit do půdy. Příjem iontů zajišťuje hlavní kořenový systém révy vinné, který sahá až k mateční hornině. Ionty K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ ovlivňují sensorické vlastnosti vína. Sensoricky se mineralita může vnímat jako zvýšená kyselost vína, hořké tóny, slanost a kovové tóny.

Nahořklé tóny do vína budou stopu Mg^{2+} . Kovové tóny ve víně mohou být způsobeny přítomností draslíkových iontů. Draslík je klíčovým prvkem pro biochemii v bobulích, ve kterých ovlivňuje změnu obsahu kyselin a pH. Při jeho dostatku reaguje s kyselinou vinnou za vzniku její soli. Pokud je draslíku nedostatek, koncentrace kyseliny vinné se zvyšuje a působí kokové tóny. Ionty vápníku jsou spojovány se zlepšením struktury půdy a lepším zakořeněním révy vinné. Jestliže dochází ke snadnějšímu přijímání živin, jsou přijímány i tyto ionty, působící mineralitu. Jednotlivé oblasti se mohou výrazně mineralitou lišit a proto i toto téma spadá do zajištění suroviny z historického pohledu a pohledu terroir.

7.1.3 Odrůdová typičnost k oblasti

Podle půdních podmínek je možné odhadovat výsadbu nových vinic a předpokládat i kvalitu stávajících. Dle historických záznamů byly vinohrady zakládány se směsí odrůd v řádku, v dnešní době je typičtější výsadba jednotlivých odrůd zvláště. Při kalamitě révokazu v druhé polovině 19. století bylo plno vinohradů vyklučeno a byly vysazeny nové s rezistentní podnoží vůči tomuto škůdci. Důležitým faktem je, že typické odrůdy zůstaly zachovány. To dokládají také výzkumy o stáří odrůd podle genetické typizace rostlin.

Častými odrůdami v oblasti Morava jsou Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský, Rulandské šedé, Rulandské bílé, Veltlínské zelené, Müller Thurgau, Frankovka, Svatovavřínecké, Modrý portugal, Neuburské a dnes již méně časté Sylvánské červené, Medovec, Chrupka bílá (viniční trať Turoid).

Typické odrůdy pro danou oblast odrážející terroir byly ve vznikajícím apelačním systému rozřazeny na:

- Znojemská vinařská podoblast (VOC Znojmo) – Sauvignon, Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené
- Mikulovská vinařská podoblast (VOC Mikulov) – Pálava, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský, Rulandské bílé, Rulandské šedé, Rulandské modré
- Úpatí Pavlovských vrchů (VOC Pálava) - Ryzlink vlašský
- Velkopavlovické vinařské podoblasti (VOC Modré hory) – vína z modrých odrůd, Frankovka, Svatovavřínecké a Modrý portugal
- Slovácké vinařské podoblasti (VOC Blatnice) – Ryzlink rýnský, Rulandské bílé, Rulandské šedé, Chardonnay

7.1.4 Klimatické podmínky

Podnebí v České republice ve vinohradnictví je řazeno mezi chladné podnebí. Pro dozrávání hroznů existuje jen jedno vhodné vegetační období, a to v období září až října. V tomto období dozrávají hrozny při teplých dnech a studených nocích. Když jsou tyto podmínky zajištěny a nedochází k rychlému a předčasnému dozrávání, vína se přiblíží svými sensorickými vlastnostmi a jejich kvalitou dané oblasti, kdy se nejvíce promítne terroir dané oblasti.

Klimatické podmínky jsou velmi důležité pro tvorbu hroznu ve dvou fázích, v květenství a při zaměkávání bobulí. První parametr, důležitý pro vhodné klimatické podmínky, je orientace svahu, obvykle bývají pozemky s jižní, jihovýchodní a jihozápadní expozicí. Při dostatečně vhodném oslunění se v hroznu reguluje, pomocí fotosyntézy a biochemických procesů, tvorba cukrů, kyselin (vzájemný poměr kyseliny vinné a jablečné), aromatických a fenolických látek a u modrých odrůd tvorbu antokyanů a tříslovin.

Přístup slunečních paprsků na listovou plochu a do okolí hroznu regulují vinohradníci pomocí zelených prací (provzdušnění a proslunění v okolí hroznu). Tím také regulují mikroklimatické podmínky v okolí hroznu. Zabezpečují tím druhou důležitou funkci, a to regulaci teploty v oblasti hroznu, kdy výkyvy mezi denními teplotami a nočními teplotami nejsou tak vysoké. V důsledku se jedná i o regulaci mikroklimatu, které nedovolí tak častému vzniku plísňových onemocnění hroznů. Houbové patogeny mohou napadat (mimo hrozny) také listy. Mikroklima lze zelenými pracemi regulovat v reakci na potřeby vinohradu.

V opačném případě vede vysoká expozice hroznů na slunci ke snížení kyselin a aromatických látek, např. u bílých odrůd dochází ke ztrátě ovocného charakteru vína a mohou se objevovat hořké tóny.

Klimatické podmínky se v průběhu let měnily, tedy není možné mít stejné nároky na surovinu jako v historicky blízkém 20. a 19. století. Klimatické podmínky jsou ve 21. století mnohonásobně těžší na udržitelnost v souvislosti s globálním oteplováním. Teplotní změny ovlivňují také rozdílnost suroviny v jednotlivých ročnících.

7.1.5 Vinobraní

Klíčovým okamžikem pro vinohradníky a vinaře bylo vinobraní. V období vinobraní byly nejdůležitější práce ve vinohradu spojeny se zelenými pracemi, sledováním změn klimatických podmínek a hlavně fyziologického stavu hroznu. Vinobraní trvalo od srpna do listopadu a v historii šlo pouze o ruční sklizeň, která se v mnoha malovínařstvích dochovala dodnes.

7.2 OPERACE VE VINAŘSKÉ TECHNOLOGII

Operace ve vinařské technologii udávají historický postup výroby vína z přelomu 19. a 20. století, přičemž byly operace vybrány i podle reálného vyhotovení na základě dochovaných technických prostředků. Na přelomu těchto století se většina ručních prací automatizuje v závislosti na vývoji a možnostech tamějšího průmyslu. Práce se zdokonalují za cílem zvýšit produkci výroby vín a také zachovat či zvýšit potenciál charakteru dobrého vína.

7.2.1 Příjem hroznů

První operací ve vinařských technologiích je příjem hroznů do sklepů či sedlářských usedlostí, kde se hrozny dále zpracovávaly. Hrozny byly posbírány do velkých dřevěných kádí a převezeny koňským spřežením na statek. Z kádí se ručně převáděly hrozny pomocí technického náčiní (věder, štoudví, škopků). Aby se ušetřila pracnost, plná vědra se převáděla pomocí jednoduchých dřevěných kladkostrojů a soustavy dřevěných válců přímo k lisu. V ověřené technologii byly použity menší objemy, na jejichž přemísťování stačila pouze lidská síla dvou lidí. Běžně se již využívá ve vinařství automatizovaný dopravník hroznů.

7.2.2 Mletí a lisování hroznů

Před samotným lisováním bylo potřeba hrozny odstopkovat a podrtit. K tomu sloužily rovinná drátěná síta, která se umístila na dřevěné škopky. Dráty síta byly většinou ocelové, pocínované nebo měděné. Následně byly hrozny mlety v celodřevěných dřevěných mlýncích nebo v dřevěných mlýncích s kovovými válci. Pro větší účinnost se používala tzv. městůvka, šlo o dřevěnou tyč, kterou se mohly hrozny stláčet v mlýnku a urychlit tak celý proces mletí. Mlýnky sloužily pro ruční pohon. Podle potřeby odrůdy se mohly hrozny nechat nakvášet nebo rovnou přemístit do lisu.

Lis, jakožto velké robustní technické zařízení, byl umístěn ve velkých selských hospodářstvích, ve velkostatecích s produkcí vína nebo v panských sklepech.

Lisy byly více typů:

- Lis kládový, složen z trámů a závaží, kvůli jeho vysokým nárokům na prostor byl v 19. století používán jen okrajově
- Lis jařmový šroubový vertikální
- Lis šroubový vertikální, hlavní technická kostra lisu byla složena z ocelového závitu a matice, které pomocí postupného zasekávání tyče do kola posouvali lisovací víko směrem ke dnu (lisování tlakem), lisová nádoba byla ze dřeva

Do dnešní doby byly dochovány s možným použitím dřevěné a kovové mlýnky, městůvky a vertikální šroubový lis.

Vylisovaná šťáva vytékala z lisu do dřevěných věder, která byla také nalezena u malovinařů v dobrém stavu. Pro další manipulaci s vinným moštem také sloužily štoudve, konve (z měděného nebo pocínovaného plechu), hrotky a nálevky. Z historického postupu byla vybrána větší a menší dřevěná vědra a měděná nálevka. Pokud by šlo o využívání větších objemů, bylo by potřeba použít moderní mechanizace v podobě automatického čerpadla s plastovými hadicemi.

Vylisovaný mošt se nechával přes noc odkalit a poté převedl do dřevěných kádí či sudů. Kvašení mohlo být také provozováno v keramických či skleněných nádobách. Opět záleží na

zvoleném objemu při výrobě vína. Dubové sudy oproti keramickým nádobám vynikali snadnější manipulací při stáčení vína a následné sanitaci nádoby.

7.2.3 Proces fermentace – laboratorní selekce autochtonních kvasinek

Fermentace neboli kvašení je biochemický proces, při kterém se pomocí biologických činitelů, především kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, za anaerobních podmínek mění přítomný cukr na alkohol. Kvašení se dělí na dva technologické přístupy - může probíhat řízeně nebo spontánně. Řízená fermentace se vyznačuje jasně danými podmínkami v průběhu kvašení. Především použitím axenické kvasinkové kultury a přesně sledovanou (regulovanou) teplotou při fermentaci. Spontánní fermentace je naopak nekontrolovaný proces s autentickou mikrobiotou z hroznů.

Použitá technologie je výsledkem hybridního přístupu obou způsobů, kdy je cílem podpořit terroir autochtonní mikrobiotou z vinohradu, a zároveň použít inovativních sofistikovaných biotechnologických nástrojů, které jsou výsledkem získání čisté kvasinkové kultury z původního mikrobiomu, což částečně přispívá k polo-řízenému procesu.

Pomocí biotechnologických technik byla provedena izolace celého mikrobiálního konsorcia a dále dominantního činitele fermentace, kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*.

Izolace:

Izolace saccharomycetní kvasinky vycházela z vymoštovaných bobulí. Vinice musely splňovat kromě historicky významného původu také řadu požadavků pro odběr reprezentativního vzorku hroznů – např. relativní ohraničenost biotopu lokality. Hrozny byly lisovány přímo na lokalitách pomocí přenosného lisu a mošt byl následně převezen do laboratoří, kde probíhala izolace mikroorganismů z moštů. Lisování na lokalitě bylo zvoleno z důvodu maximální eliminace výskytu dalších nežádoucích kvasinkových kmenů – např. kontaminace mikrobiotou technologického sklepa. Za určitých podmínek by se tato kontaminace mohla stát dominantní v průběhu laboratorní spontánní fermentace.

Vylisování moštu na dané lokalitě zajišťuje ideální podmínky, přičemž nedochází ke křížové kontaminaci vzorku a spolehlivost autentičnosti mikrobiální flóry pro danou viniční trať je maximální. Izolace mikroorganismů z moštů byla rozdělena do několika fází fermentačního procesu: pre-fermentační fáze (izolace z kalů), fermentační fáze (mikroperlení, bouřlivé kvašení) a z konce fermentace (získání kmenů kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*).

Izolace byla provedena na základě selekčních tuhých půd, které obsahovaly komponenty, které inhibují růst nežádoucích mikroorganismů (sladinový agar s tetracyklinem). Izoláty byly následně podrobeny identifikaci pomocí biochemických testů Biolog (fenotypová analýza založená na asimilačních a respiračních testech).

Konzervace:

Získané izoláty byly podrobeny konzervaci v podobě lyofilizace. Lyofilizace se řadí mezi nejšetrnější konzervační techniky, prostřednictvím které se získá mikrobiální biomasa s dlouhou expirační dobou. Jedná se o tzv. sušení mrazem. Čerstvě nakultivovaná kvasinková biomasa byla sterilně převedena s připraveným sterilním lyoprotekčním médiem (celkový objem 1 ml) do 2ml lyofilizační zkumavky. Zkumavka byla napůl uzavřena pryžovým víčkem a vložena do hlubokomrazicího boxu při teplotě - 60 °C. Po zmrazení byly vzorky přepraveny do lyofilizátoru. V přístroji došlo ke snížení pracovního tlaku na hodnotu vakua. Vzorek byl vysušen v závislosti na probíhající sublimaci vody. Po lyofilizaci byly vzorky plně uzavřeny a opatřeny kovovým víčkem (podobným konzervě). Lyofilizáty byly dlouhodobě uchovávány v lednici.

Primární charakterizace:

Po izolaci bylo široké spektrum izolátů kvasinek podrobena detailnímu testování tzv. primární charakterizace. Pomocí metodik pro sledování růstových křivek, inhibice růstu substrátem (glukosou, nazývaná osmotolerance), inhibice růstu koncentrační řadou etanolu, mikroviniifikací (fermentačního procesu v malém objemu) bylo možné pozorovat rozdílný fenotypový projev kvasinek. A díky tomu vyselektovat vhodné autochtonní kvasinky pro sekundární charakterizaci.

Růstová křivka:

Prvním z testů bylo proměření růstových křivek kvasinkových izolátů pomocí sledování nárůstu optické density (OD_{600}) buněčné suspenze v čase na vybraných typech médií. Výsledná data poskytovala informaci o samotné schopnosti růstu kvasinek, o rozdílnosti růstu mezi izoláty a o preferenci kultivačních médií jakožto zdroji uhlíku dusíku a energie.

Charakterizace kvasinek:

Charakterizace kvasinek popisuje toleranci k osmotickému tlaku (glukosou) a etanolu v médiu. Toleranci je možné ovšem chápat opačně, a to jako sledování vlivu inhibitoru. Tedy koncentrace glukosy či etanolu zpomalující či zastavující růst. Získaná data byla proložena běžně používaným sigmoidním modelem se čtyřmi parametry. Z proloženého modelu byla vypočtena hodnota 50% inhibiční koncentrace (IC_{50}). Hodnota (běžně používaná v biologických vědách) je definovaná jako koncentrace inhibitoru, při které se schopnost růstu sníží (vztaženo na veličinu OD_{600}) na polovinu.

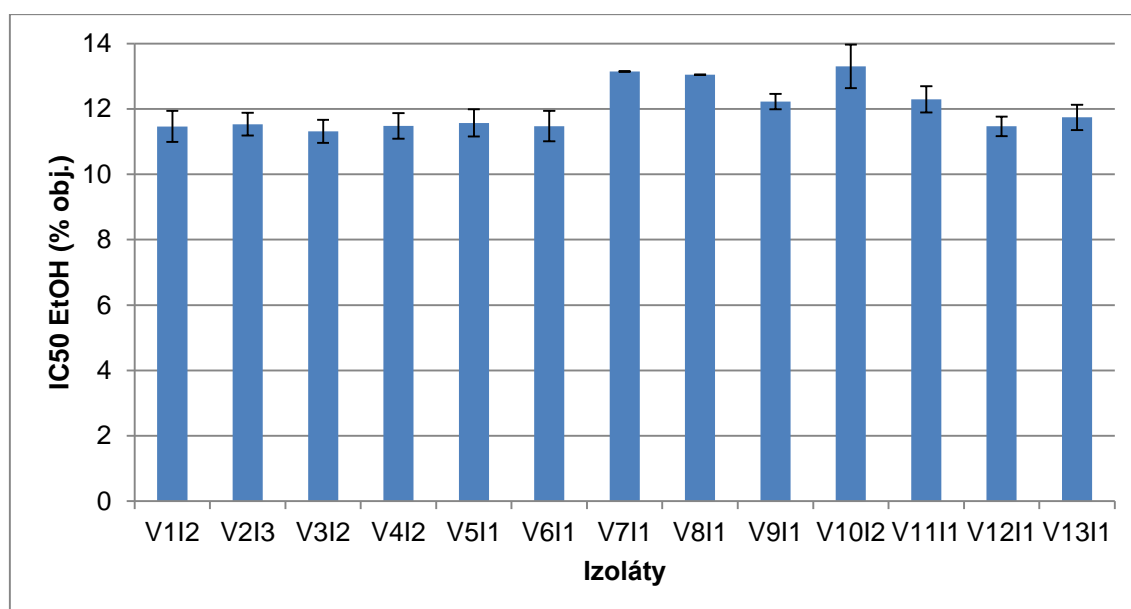
Mikroviniifikace:

Dalším důležitým testem v primární charakteristice byla mikroviniifikace. Jedná se o fermentační test v laboratorním měřítku (při 20 °C), který je založen na gravimetrickém stanovení úbytku CO_2 , který vzniká metabolickou činností kvasinek. Tato data z monitoringu slouží jako podklad pro následný výpočet koncentrace vyprodukovaného etanolu. Výsledným údajem je maximální rychlost produkce etanolu, maximální dosažená hodnota etanolu.

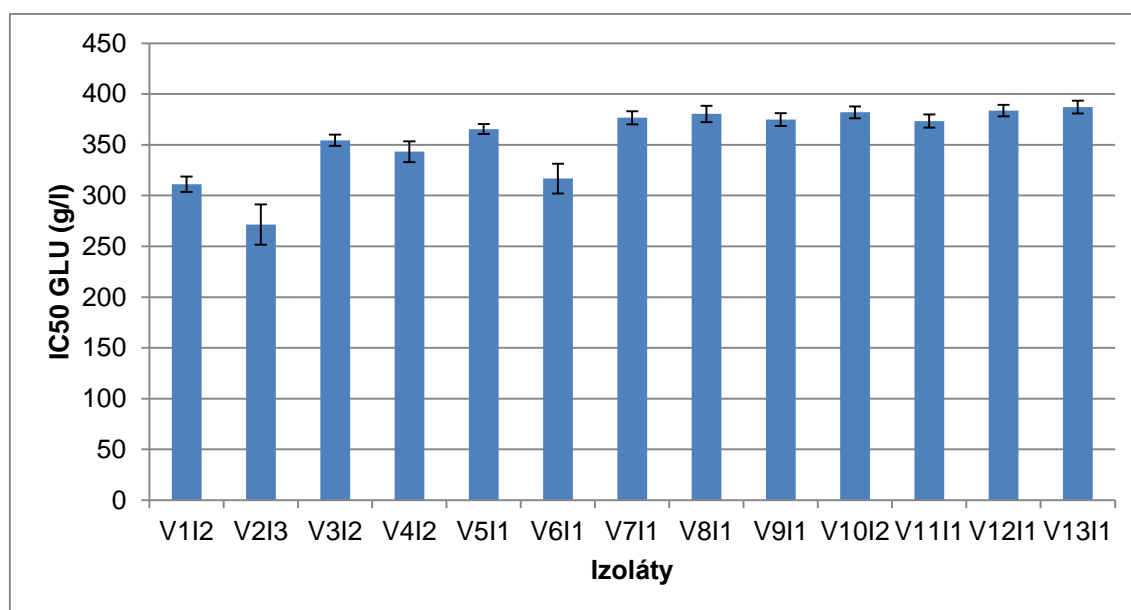
Výsledná data v Tab. 1 (mikroviniifikace) a na Obr. 2 – 3 (charakterizace: osmotolerance a tolerance vůči přidanému etanolu) náleží souhrnu kmenů, které byly vybrány ze širokého spektra izolátů. Jedná se o potencionálně vhodné kandidáty pro testování v sekundární charakterizaci, kteří dosáhli nejlepších výsledků v testování primární charakterizace.

Tab. 1: Vybrané kvasinkové izoláty s nejvyšší produkcí etanolu a max. produkcí etanolu

Izolát	Max. produkce EtOH (obj. %)	Max. rychlost produkce EtOH (h ⁻¹)	Čas fermentace (h)	Izolát	Max. produkce EtOH (obj. %)	Max. rychlost produkce EtOH (h ⁻¹)	Čas fermentace (h)
V1I2	12,2	0,103	507	V8I1	12,6	0,062	627
V2I3	10,9	0,080	572	V9I1	11,6	0,054	615
V3I2	12,8	0,138	507	V10I2	13,0	0,106	545
V4I2	11,9	0,073	544	V11I1	11,7	0,079	672
V5I1	11,8	0,072	519	V12I1	12,2	0,113	507
V6I1	12,6	0,113	593	V13I1	12,5	0,087	388
V7I1	12,6	0,082	570				



Obr. 2: Stanovené hodnoty IC50 pro etanol u vybraných kvasinkových izolátů.



Obr. 3: Stanovené hodnoty IC50 pro osmotoleranci u vybraných kvasinkových izolátů.

Výsledky charakterizace na Obr. 2 – 3 potvrdily dostatečnou toleranci vůči etanolu a vůči osmotickému tlaku. V obou případech byly hodnoty sledovaných tolerancí vyhodnoceny jako technologicky dostatečné a na základě projektového rozhodnutí bylo schváleno jejich využití v další úrovni testů – tzv. sekundární charakterizaci. Zároveň všechny vybrané kvasinkové kmeny disponují vysokým fermentačním potenciálem (dle Tab. 1), který je taktéž určujícím parametrem pro aplikaci v sekundární charakterizaci.

7.2.4 Proces fermentace a jeho scale up pro aplikace reálných podmínek

Dalším krokem bylo z primární charakterizace selektované autochtonní kvasinky otestovat na reálných podmínkách tzv. sekundární charakterizace. (laboratorního testování).

Sekundární charakterizace kvasinkových izolátů je založena na principech uvedených v této technologii – inovativní kombinace historických a moderních technologických postupů. Cílem této úrovně testování je již simulace reálných podmínek. Pro vlastní fermentační testování bylo využito reálných moštů, které byly připraveny v souladu s historickými postupy uvedenými výše (kap. 7.1.1 – 7.2.1). Pro vhodnou aplikaci historického náradí, byl zvětšen pracovní objem na 50 l moštu.

Snahou přiblížit se reálným podmínkám bylo také navržení přípravy kvasinkového preparátu, který by se podobal klasicky nabízeným komerčním preparátům kvasinkové kultury. Kvasinkový preparát bylo nutno připravit ještě před zahájením celého pokusu, jelikož se jednalo o samostatný výrobní biotechnologický a inženýrský přístup, zahrnující upstream a downstream procesy.

Příprava autochtonní kvasinky pro proces fermentace:

Pro namnožení kvasinkové biomasy byla použita Fed-batch kultivace v bioreaktoru. Zvolený způsob vedení bioproduktu zabezpečuje větší výnos kvasinkové biomasy z hlediska průběžného dodávání potřebných živin a efektivního využití C a N zdroje.

Každá kvasinka byla kultivována samostatně. Pro kultivaci bylo potřeba předpřipravit sterilní bioreaktor s médiem, veškeré komponenty náležící bioreaktoru, zvláště médium pro přítokování, médium pro přípravu inokula.

Po sterilaci bylo připraveno inokulum, kvasinková kultura byla zaočkována do média a kultivována 24 h při teplotě 30 °C a třepání 130 rpm. Po 24 h byla narostlá buněčná biomasa převedena do většího objemu (propagace), kde již probíhala kultivace pouze 6 hodin a následně sterilně pomocí čerpací soustavy převedena sterilně do bioreaktoru. Mezitím byl bioreaktor už zapojen do monitorovacího okruhu. V rámci kultivace byly sledovány parametry: změna pH, změna kyslíku, pění média. Kultivace v reaktoru probíhala 24 h a teplota kultivačního média se pohybovala okolo 30 °C. Dalším krokem byla kvasinková suspenze odstředěna a získaná biomasa byla smíchaná s lyoprotekčním médiem. Následně byla biomasa zamrzána na – 60 °C. Po úplném zmrznutí podléhala lyofilizaci.

Po lyofilizaci byl získaný prášek (kvasinkový preparát) převeden do potravinářského hliníkového pytlíku, kde byl také zavakuován. Takto připravený preparát mohl být použit pro další operace (rehydrataci, fermentaci).

Surovina a její zpracování:

Pro tento pokus byly využity mošty odrůd Ryzlink rýnský, Rulandské bílé, Veltlínské zelené, Tramín červený, Svatovavřínecké, Modrý portugal, Frankovka, André (Tab. 2)

Tab. 2: Výčet použitých moštů a vstupní koncentrace cukrů.

Odrůda	Zkratka	Vstupní koncentrace cukrů u moštů (°NM)
Ryzlink rýnský	RR	21,0
Rulandské bílé	RB	20,0
Veltlínské zelené	VZ	20,5
Tramín červený	TČ	20,8
Svatovavřínecké	SV	21,0
Frankovka	Fr	21,0
André	An	21,5
Modrý portugal	MP	22,3

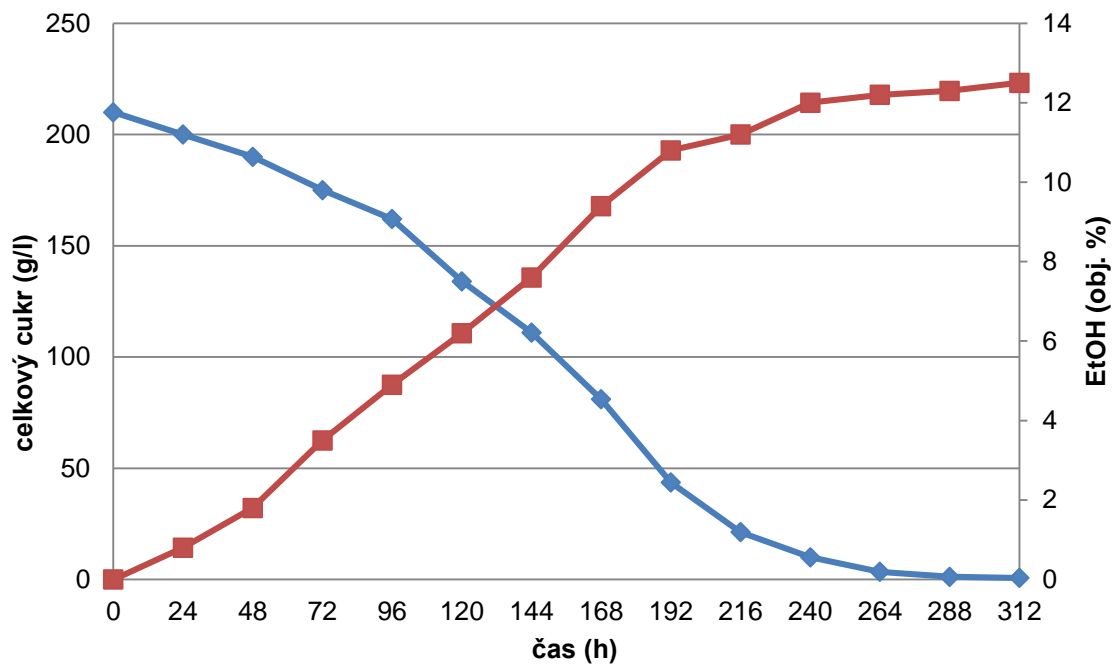
Všechny použité hrozny byly v dobré fyziologické a technologické kondici. Mošty bílých odrůd byly (po vylisování) přes noc odkaleny gravimetrickou sedimentací na NTU 420 – 500, mošty obsahovaly od 220 do 310 mg/l asimilovatelného dusíku (YAN). Hodnoty YAN odpovídají hodnotám pro správně vedenou fermenty a nikde nebyl YAN upravován.

Zpracování modrých odrůd bylo zdlouhavější. Po mletí se nechaly bobule nakvášet a až poté byly mošty vylisovány a odkaleny. Ani u modrých odrůd nemusel být použit přídatek YAN.

Proces fermentace

Připravený kvasinkový preparát bylo potřeba rehydratovat v malém objemu 1:1 moštu s vodou. Dávkování pro celkový 50 l objem bylo 10 g preparátu. To odpovídá buněčné densitě v moštu 10⁶ buněk/ml. Počet buněk byl stejný jako při primární charakterizaci.

Jelikož se jednalo o větší pracovní objem (50 l) v rámci laboratorního testování, byl zde monitorován průběh fermentace (produkce etanolu a úbytku celkového cukru) pomocí FTIR analyzátoru v intervalu 24 h (Obr. 4, názorná vizualizace dat pro izolát V112).



Obr. 4.: Průběh fermentace moštu RR kvasinkovým izolátem V112 z hlediska změny koncentrace celkových cukrů a etanolu.

V průběhu fermentace byla také sledována kvasinková biomasa z hlediska hodnocení jejího fyziologického stavu. Pro toto hodnocení byla použita metodika barvení methylenovou modří a následná enumerace v Bürkerově komůrce, která funguje na principu redukce modrého barviva na bezbarvou látku pomocí mitochondriálních oxidoreduktáz živých buněk. U mrtvých buněk se předpokládá, že tuto funkci již nemají a tím pádem podléhají obarvení. Pro mikrobiální analýzu barevným indikátorem byla použita světelná mikroskopie. Z výsledků tohoto měření bylo zjištěno, že všechny izoláty se v průběhu kvašení nacházejí ve velmi dobrém fyziologickém stavu. Průměrná viabilita se pohybovala kolem 92 % živých buněk a 8 % mrtvých buněk. Po ukončení fermentace byly výsledky totožné. Z výsledků lze předpokládat, že proces fermentace neskončil v důsledku inhibice produktem – etanolem. Konec fermentace lze brát, jako maximální fermentační schopnost izolátu na reálném vzorku (vinném moštu).

Dalším sledovaným parametrem byla produkce aromatických látek – vyšších alkoholů a esterů, které vznikají v průběhu fermentace výlučně mikrobiální činností (Tab. 3).

Tab. 3: Rozmezí hodnot obsahu vyšších alkoholů a esterů u sledovaných vín a sensorický projev daných látek

vyšší alkoholy (VA)		
chemická sloučenina	koncentrace ve víně (mg/l)	sensorický projev
propanol	9,0-68	alkoholový, fermentační
butanol	0,5-8,5	banán, hruška
izobutanol	9,0-174	květinový, růže, ovocný
izoamylalkohol	6,0-490	banán, ovoce
hexanol	0,3 -12,0	sladký, parfémový
2-fenyletylalkohol	4,0-197	květinový, růže, ovocný
estery vyšších alkoholů (EST)		
chemická sloučenina	koncentrace ve víně (mg/l)	sensorický projev
ethylacetát	22,5-63,5	ovocný (negativně - ředidlo)
isoamylacetát (isopentylacetát)	0,1-3,4	banán, hruška
2-fenyletylacetát	0-18,5	květinový, růže, ovocný
isobutylacetát	0,01-1,6	banán, ovoce
hexylacetát	0-4,8	sladký, parfémový
ethylhexanoát	0,03-3,4	zelené jablko
ethyloktanoát	0,05-3,8	mýdlový
ethyldekanoát	0-2,1	květinový, mýdlový

Po konci fermentace byly odebírány vzorky na chemickou analýzu pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (Tab. 4). Na základě výsledných hodnot vyšších alkoholů a esterů vyšších alkoholů byly kvasinkové izoláty hodnoceny pro svou vhodnost a využitelnost ve vinařských technologiích. Zejména V3I2, V6I1 a V11I1 měly nejvyšší produkci esterů. A lze je brát za potenciální esterové kvasinky, které nejvíce zvýrazní ovocné a květnaté tóny ve víně. Potenciál esterových kvasinek byl potvrzen na základě analýzy získaných dat – vyjádření esterového score prostřednictvím vztažení naměřených hodnot jednotlivých esterů vůči jejich prahové koncentraci. V Tab. 5 byly zvýrazněny kvasinky V3I2 a V11I1, u kterých bylo stanoveno nejširší spektrum esterů a také vysoké hodnoty jak jednotlivých esterů (EST), tak jejich sumy.

Na konci fermentace byly také odebrány vzorky pro stanovení etanolu a zbytkového cukru pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s refraktometrickým detektorem (Tab. 4).

Tab. 4: Výsledná data z vinifikací (objem 50 l)

Izolát	Mošt	Suma EST s ethylacetátem (mg/l)	Suma EST bez ethylacetátu (mg/l)	Suma VA (mg/l)	Produkce EtOH (obj. %)	Zbytkový cukr (g/l)
V1I2	RR	98,87	0,97	46,14	12,50	0,70
V2I3	VZ	63,16	2,36	34,72	12,20	1,20
V3I2	TČ	110,35	4,35	69,72	12,38	0,55
V4I2	TČ	69,14	3,04	76,99	12,30	0,70
V5I1	TČ	88,11	1,61	48,32	12,20	1,10
V6I1	TČ	101,05	4,05	82,86	12,38	0,60
V7I1	TČ	83,68	3,48	79,67	12,30	0,69
V8I1	Fr	37,77	2,07	78,25	12,40	1,20
V9I1	RB	51,77	3,27	76,84	11,90	0,30
V10I2	RR	42,02	2,42	90,19	12,35	2,50
V11I1	SV	166,98	4,98	82,08	12,50	0,53
V12I1	MP	65,09	3,07	72,46	13,20	1,10
V13I1	An	26,81	2,61	67,85	12,80	1,00

Tab. 5: Souhrn esterů vyjádřen jako poměr naměřených hodnot ve víně vůči prahu vůně.

chemická sloučenina	isoamylacetát (isopentyl-acetát)	ethylhexanoát	hexylacetát	ethyloktanoát	ethylacetát	suma esterů
senzorický projev	banán, hruška	zelené jablko	sladký, parfémový	mýdlový	ovocný	
V1I2	0,00	19,40	0,00	0,00	13,05	32,45
V2I3	0,00	47,20	0,00	0,00	8,11	55,31
V3I2	34,33	41,60	0,91	30,00	14,13	120,98
V4I2	33,33	25,00	0,00	39,50	8,81	106,65
V5I1	0,00	32,20	0,00	0,00	11,53	43,73
V6I1	33,67	48,40	0,00	31,00	12,93	126,00
V7I1	27,33	37,60	0,00	39,00	10,69	114,63
V8I1	0,00	41,40	0,00	0,00	4,76	46,16
V9I1	17,67	44,00	0,00	27,00	6,47	95,13
V10I2	22,00	35,20	0,00	0,00	5,28	62,48
V11I1	32,33	56,40	0,77	32,50	21,60	143,60
V12I1	24,33	46,80	0,00	0,00	8,27	79,40
V13I1	0,00	52,20	0,00	0,00	3,23	55,43

Post-fermentační operace

Po ukončení fermentace byla vína pomocí odstředivého čerpadla stočena z hrubých kalů. Z hlediska dobrého stavu hroznu, čisté kultury a technologicky čistého sensorického vjemu byla vína sířena minimálním množstvím, a to koncentrací 20 mg/l celkového SO₂. Vína byla uchována ve skleněných 50 l demižónech. Po 6 týdnech byla opětovně stočena z jemných kalů a zvýšena koncentrace celkového SO₂ o 20 mg/l. Vína v průběhu ležení na jemných kalech byla sensoricky testována, aby se nezanedbal vznik reduktivních vad. Po 2 měsících ležení následovalo čiření vína bentonitovým preparátem, který obsahoval z 90 % montmorillonit. Použití smektitového minerálu pro účely čiření je v souladu s historickými postupy, kde bylo využíváno rovněž jílových minerálů.

Po odkalení byla vína filtrována. Filtrace byla zvolena jako další postup, který je vázaný k historické činnosti v procesu školení vína. Byla schválena na základě kolektivní konzultace projektového týmu, jakožto potřebný krok pro zlepšení organoleptických vlastností produktu s návazností na vlastní sensorické hodnocení. Prvně byla vína podrobena tzv. hrubé filtraci přes deskový filtr Hobra-40. Tím se vína zbavila hrubých kalů, které by mohly víno ovlivnit negativním sensorickým směrem. Po 14 dnech byla uskutečněna jemná filtrace pomocí deskového filtru Hobra-10. Vlivem technologických ztrát během filtrace byla vína naplněna

do 25 l skleněných demižonů (až po okraj hrdla). Ve skleněných demižonech pod korkovou zátkou byla vína připravena na dlouhodobé uskladnění.

Vína se po poslední filtraci nechala 14 dní odležet. Poté byla připravena pro senzorké hodnocení. Pro toto hodnocení byl použit 100 bodový hodnotící systém (Tab. 6, Tab. 7). Hodnotící panel byl složen z 5 odborníků. Výsledné hodnocení bylo uzpůsobeno také senzorkému profilu stylu vín pro historickou výrobu a autentičnost projevu.

Tab. 6: Tabulka 100 bodového hodnotícího systému

100 BODOVÝ SYSTÉM HODNOCENÍ						
Hodnocení		Vynikající	Velmi dobré	Dobré	Uspokojivé	Nedostatečné
Vzhled	Čírost	5	4	3	2	1
	Barva	10	8	6	4	2
Vůně	Intenzita	8	7	6	4	2
	Čistota	6	5	4	3	2
	Harmonie	16	14	12	10	8
Chuť	Intenzita	8	7	6	4	2
	Čistota	6	5	4	3	2
	Harmonie	22	19	16	13	10
	Perzistence	8	7	6	5	4
Celkový dojem		11	10	9	8	7
Celkový počet bodů						

Tab. 7: Definice pojmů využívají 100 bodový systém

Pojem	Definice	
Vzhled	Čirost	Stanovení intenzity zakalení, nejlepší = vynikající čirost (5 b.)
	Barva	Primární = intenzita barvy, Sekundární = odstíny a tóny barev
Vůně	Intenzita	Pozitivní intenzita – spojována s přítomností alkoholu a extraktivních látek (odraz výroby stylu vína)
	Čistota	Hodnotí čistý projev vína ve vůni (neobjevují se negat. tóny, co by znehodnotili projev)
	Harmonie	Popisuje harmonizaci aroma, kdy vjem sensoricky aktivních látek působí sjednoceným dojmem.
Chuť	Intenzita	Pozitivní intenzita – spojována s přítomností alkoholu a extraktivních látek (odraz výroby stylu vína)
	Čistota	Hodnotí čistý projev vína v chuti (neobjevují se negativní tóny, co by znehodnotili projev)
	Harmonie	Popisuje harmonické sladění sensoricky vnímaných složek vína, př. kyseliny, cukry, třísloviny a sensoricky aktivní látky.
	Perzistence	Čas přetrvávajícího vjemu v sekundách, poté co se již víno nenachází v ústní dutině

Tab. 8: Výsledky hodnocení 100 bodového systému

Izolát	Mošt (°NM)	100 bodový hodnotící systém	Pořadí	Izolát	Mošt (°NM)	100 bodový hodnotící systém	Pořadí
V112	RR (21 °NM)	78	8. - 10.	V811	Fr (21 °NM)	75	11.
V213	VZ (20,5 °NM)	86	6.	V911	RB (20 °NM)	94	1. – 2.
V312	TČ (20,8 °NM)	94	1. – 2.	V1012	RR (21 °NM)	88	5.
V412	TČ (20,8 °NM)	68	12.	V1111	SV (21 °NM)	93	3.
V511	TČ (20,8 °NM)	71	13.	V1211	MP (22,3 °NM)	83	7.
V611	TČ (20,8 °NM)	89	4.	V1311	An (21,5 °NM)	78	8. – 10.
V711	TČ (20,8 °NM)	78	8. -10.				

U všech vín byl potvrzen originální a rozmanitý organoleptický profil. Nejlepší, nejoriginálnější a nejrozmanitější charakter vína byl sledován u testovaných izolátů: V312, V611, V911 a V1111. U kvasinek V312 a V1111 vysoký projev ovocného a květinového aroma. Tyto autochtonní kvasinky mohou být dále doporučeny pro následné testování v poloprovozu.

7.3 SKLADOVÁNÍ VÍNA

Poslední kapitolou zahrnutou v historické výrobě vína je skladování vína. Pro skladování vína v 19. a 20. století byly využívány dubové sudy, stojaté uzavřené dřevěné kádě kónického tvaru uložené na trámovém podstavci (doplňovacím otvor byl v horním čele) a hlíněné nádoby. Výhodou dřevěných sudů byla vysoká trvanlivost, stálost a manipulovatelnost. Sudy měly pozitivní vliv na zrání vína. Před aplikací nových dubových sudů musel nastat proces zaviňování.

Kromě sudů se mohlo víno uchovávat v keramických nádobách (případně skleněných) nebo skleněných lahvích. Dřevěné sudy a skleněné demižony jsou používány až do současnosti.

8. BEZPEČNOST POUŽITÍ

Nakládání s chemickými látkami při sanitaci nádob dle:

- zákona č. 262/2006 Sb. – Zákoník práce
- zákona č. 309/2006 Sb. o zajištění dalších podmínek bezpečnosti a ochrany zdraví při práci

A v souladu se souvisejícími prováděcími předpisy

Nakládání s biologickými činiteli dle:

- zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví,
- zákona č. 262/2006 Sb.,
- zákona 309/2006 Sb., o zajištění dalších podmínek bezpečnosti a ochrany zdraví při práci,
- nařízení vlády č. 361/2007 Sb., kterým se stanoví podmínky ochrany zdraví při práci.
- vyhlášky č. 432/2003 Sb., kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli,

Nakládání s hotovým produktem dle:

- zákona č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství

9. POPIS POUŽITÍ

Předpokládaným uživatelem:

- Akademická sféra
- Malí a střední producenti

Předpokládaným uživatelem výsledku bude odborník ve vinařské problematice, který bude chtít rozšířit či zatraktivnit portfolio svých produktů hybridní technologií opírající se o tradiční a historickou výrobu vína s moderními biotechnologickými prvky podporující originalitu a autentičnost vína.

- 1) Surovina – lokální surovina v dobrém fyziologickém stavu
- 2) Technologické nástroje uvedené ve výčtu této dokumentace
- 3) Biotechnologický činitel

Použití lyofilizovaného preparátu:

Funkce a postup aplikace preparátu vinařské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* pro účely vinifikace odkaleného moštu je následující:

Příprava moštu:

- Odkalení moštu doporučujeme maximálně na 150 NTU. Při větším odkalení nemusí použitý mošt obsahovat dostatečné množství výživy potřebné pro úspěšnou fermentaci. Obsah asimilovatelného dusíku v moštu doporučujeme alespoň 200 mg/l.

Dávkování kvasinky:

- Pro kvašení moštů dávkujeme 20 g preparátu na 100 l moštu.

Příprava zákvasu:

- K jednomu dílu kvasinek se přidá 5 dílů moštu a 5 dílů teplé vody (cca 30 °C). Vzhledem k jemné struktuře je preparát nutné velmi dobře rozmíchat.
- Aktivace kvasinek po dobu 15 až 20 min. Kvasinky obvykle netvoří pěnovou korunku.
- Po aktivaci kvasinek se takto připravený zákvas přidá k hlavnímu podílu moštu. Teplotní rozdíl mezi zákvasem a moštem nesmí být větší než 7 °C. Velký rozdíl teplot mezi kvasinkovou suspenzí a moštem může způsobit poškození přidávaných buněk.


Kvašení:

- Průběh kvašení je ve většině případů s terroir kvasinkou pozvolný.

Skladování:

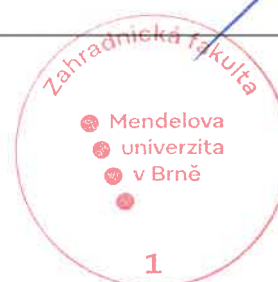
- Skladování kvasinek v suchu a chladu. Otevřená balení je nutné těsně uzavřít a co nejdříve spotřebovat.

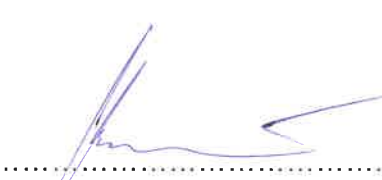
10. UPLATNĚNÍ OVĚŘENÉ TECHNOLOGIE V PRAXI

Název organizace, IČ, DIČ organizace	Sídlo organizace	Stát	Rok uplatnění výstupu	Razítko, datum, podpis zástupce organizace
Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta IČ: 621 56 489 DIČ: CZ62156489	Valtická 337, 691 44 Lednice	ČR	2020	1.4.2020 

V Lednici, dne 1. 4. 2020

Podpis autorů



.....

 doc., Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

.....

 doc., Ing. Jiří Sochor, Ph.D.