

DOKUMENTACE POLOPROVOZU

Technologie pro výrobu vína pomocí původních druhů kvasinek

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

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



Vypracovali: doc. Ing. Jiří Sochor, Ph.D., doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.,
zástupce organizace: doc. Dr. Ing. Alena Salašová

V Lednici dne 28. 5. 2020

výtisk č.

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

ZÁKLADNÍ ÚDAJE O POLOPROVOZU

Jazyk v originále		Čeština
Název	v originále	Technologie pro výrobu vína pomocí původních druhů kvasinek
	v anglickém jazyce	Technology for wine production using original types of yeast
Anotace	v originále	Technologický postup se opírá o dokumentaci ověřené technologie, která souhrnně shromažďuje a ověřuje informace o inovativní hybridní technologii výroby vína, která využívá znalosti historického postupu vína s novodobými biotechnologickými procesy za účelem podpořit autentičnost výroby vína na Moravě. V použité technologii je brán nejvyšší důraz na autentičnost dílčích kroků, které dávají za vznik jedinečnému výstupu (hotovému vínu) s důrazem na terroir odrážející vlastnosti vinařské oblasti Morava.
	v anglickém jazyce	The technological process is based on documentation of proven technology, which collectively collects and verifies information about innovative hybrid wine production technology, which uses knowledge of the historical process of wine with modern biotechnological processes in order to support the authenticity of wine production in Moravia. The technology used places the highest emphasis on the authenticity of the partial steps that give rise to a unique output (finished wine) with an emphasis on terroir reflecting the characteristics of the Moravian wine region.

Autoři	Příjmení	Jméno	Titul	Podíl v %
1	Sochor	Jiří	doc., Ing., Ph.D.	50
2	Baroň	Mojmír	doc., Ing., Ph.D.	50

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

1 VLASTNÍK POLOPROVOZU

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-Polop-01

Interní identifikace - označení produktu vlastníkem.

2 POPIS POLOPROVOZU

Umístění	Technické parametry	Ekonomické parametry	Licence	Poplatek
Experimentální sklep Ústavu vinohradnictví a vinařství (ZF MENDELU) Valtická 337, Lednice 691 44	Poloprovoz ověřuje hybridní technologický postup výroby vína.	Licence k poloprovozu je ceněna na 100 tis. Kč	1	3 [*]

Umístění – Ústav vinohradnictví a vinařství (ZF MENDELU). 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 DG16P02R017

3 VZTAH POLOPROVOZU K AKCÍM (GRANTŮM APOD.)

Typ vztahu	Typ akce	Název akce (uved'te 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 Morově."	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.

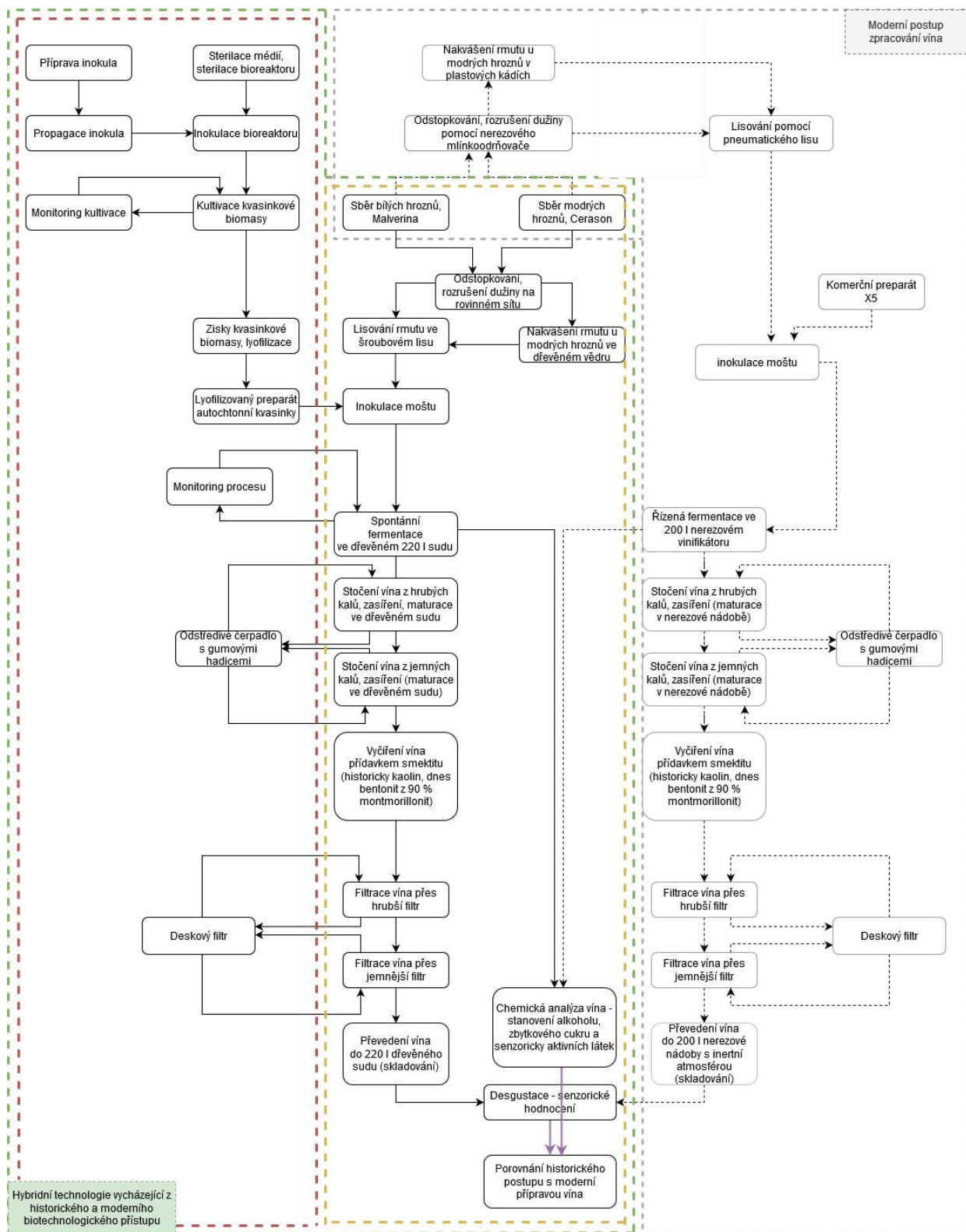
4 KLÍČOVÁ SLOVA

Česky:	Kvasinka	Historický postup	Hybridní technologie	Senzorická analýza
Anglicky:	Yeast	Historical process	Hybrid technology	Sensory analysis

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

5 TECHNICKÝ POPIS POLOPROVOZU

Popisovaný poloprovoz je založen na ověřené technologii - Ověřená technologie historického způsobu výroby vína pro danou oblast, která byla dosažena v rámci aktivit projektu Vinohradnictví a vinařství pro zachování a obnovu kulturní identity vinařských regionů na Moravě (DG16P02R017). Poloprovoz byl realizován na základě aplikace navržené a ověřené hybridní technologie propojující historický postup výroby vína s modernistickými biotechnologickými prvky. Důležitým a stěžejním parametrem bylo vybrat jednotlivé funkční historické nástroje, které jsou přístupné a stále uplatnitelné v praxi. Hybridní technologie byla porovnána s moderní výrobou vína na základě chemického a senzorického hodnocení vína. Pro správnost porovnání byla potřeba dodržet stejné časové úseky mezi jednotlivými kroky, aby bylo možné pozorovat rozdílné parametry mezi oběma technologiemi. Proces vycházel ze zvolení stejné suroviny, která byla ve velmi dobrém fyziologickém a technologickém stavu. To bylo zajištěno pravidelným sledováním vývoje suroviny v době dozrávání a zrání. Veškeré technologické kroky historické výroby vína jsou velice šetrné ke zpracování kvalitní suroviny. Proces je mnohdy zdoluhavý oproti moderním technologickým postupům. Celý technologický proces shrnuje schéma na Obr. 1. V rámci poloprovozu byly pro fermentaci nakultivovány kvasinky, které byly izolovány a testovány v technické dokumentaci ověřené technologie. Dle nejlepších vykazovaných vlastností byly použity axenický kvasinkový kmen V3I2 (na bílou odrůdu) a V11I1 (na modrou odrůdu). Pro porovnání byla v moderním technologickém aplikována komerční kvasinka X5 značky Laffort. Výsledné senzorické hodnocení prokázalo u obou odrůd zpracované hybridní technologií unikátní organoleptické vlastnosti projevu vína. V použité technologii je brán nejvyšší důraz na autentičnost dílčích kroků, které dávají za vznik jedinečnému výstupu (hotovému vínu) s důrazem na terroir odrážející vlastnosti vinařské oblasti Morava.



Obr. 1: Schéma použití hybridní technologie pro poloprodukt, vedle něj porovnání výroby vína pomocí moderní technologie

6 SUROVINA

Pro poloprovaz byly vybrány dvě odrůdy, zástupce bílé odrůdy byla Malverina a zástupce pro modré odrůdy Cesaron. Obě odrůdy byly použity z viniční trati Na Valtické.

Popis trati:

Viniční trať: Na Valtické

Podoblast: Mikulovská

Obec: Lednice

Klimatické podmínky:

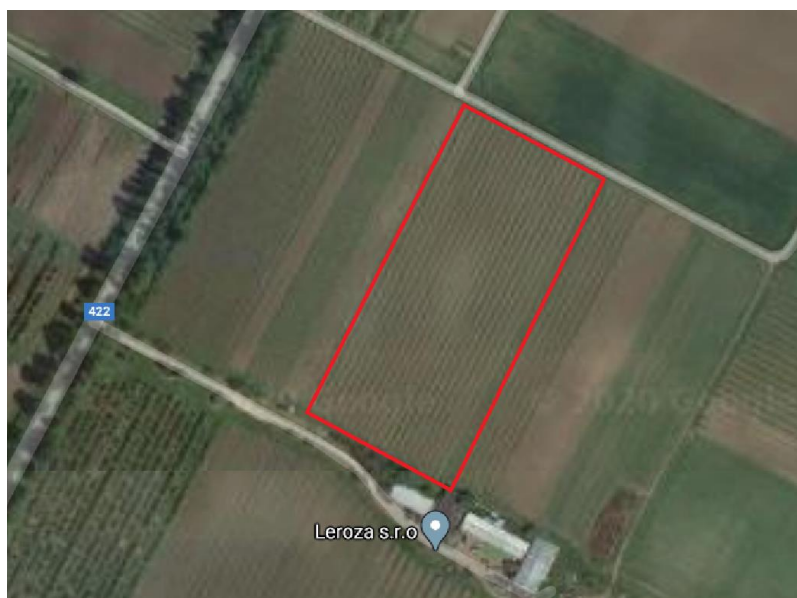
Plocha vinice je otevřená a dobře osluněná. Podle statistického vyhodnocení jednotlivých ročníků se průměrná teplota pohybuje okolo 9 °C. Průměr úhrnu ročních srážek byl vyčíslen na 516,6 mm. Oblast, ve které se vinohrad nachází, spadá svou charakteristikou do teplé a suché s mírnou zimou.

Pedologické podmínky:

Pozemek vinice je převážně rovinatý s mírným sklonem na jihozápad. Vinice se nachází v malé nadmořské výšce a to 176 m. n. m. Složení půdy je charakterizováno jako hlinitopísčité s obsahem 20 – 24 % jílovitých částic. Půdy toho typu bývají lehké a dobře propustné. Půda je velmi vhodná pro prostup kořenového svazku révy vinné a zisku minerálních iontů, které odráží charakter terroir.

Vedení révy vinné:

Vedení révy vinné bylo uzpůsobeno na střední typ vedení dle rýnsko-hessenské způsobu s vodorovným tažněm. Keře révy vinné byly vysazeny od sebe ve vzdálenosti 1 m a se šířkou meziřadí 2,6 m.



Obr. 2: Vymezení vinohradu na mapách (původ hroznů).

Tab. 1: Popis použitých odrůd Malverina a Cerason

Odrůda	Malverina (bílé hrozny)	Cerason (modré hrozny)
Původ	kříženec odrůd Rakiš (Villard blanc x Veltlínské červené rané) a Merlan (Merlot x Seibel 13666).	kříženec odrůd Merlan (Merlot x Seibel 13 666) a Fratava (Frankovka x Svatovavřínecké)
Popis keře	Růst keře je slabší až středně bujný. Keř bývá hustě olistěný. Letorosty jsou polovzpřímené až vodorovné.	Růst keře je středně bujný až bujný. Olistění bývá husté s velkým množstvím zálistků.
Popis listu	Velikost listu: malá až středně velká Tvar čepele: okrouhlý až pětiúhelníkový, bez vyznačených laloků s mělkými horními bočními výkroji. Svrchní strana listové čepele je hladká, mohou se vyskytovat drobné puchýřky. Spodní strana bývá lysá a málokdy řídce chloupková. Řapík je středně dlouhý s načervenalým zbarvením. Řapíkový výkroj je lyrovitého tvaru a bývá jemně překrytý.	Velikost listu: velká až středně velká Tvar čepele: okrouhlý, třílaločnatý s mělkými výkroji, může být až celookrajný Svrchní strana listu bývá hladká až jemně puchýřovitá. Spodní strana listů bývá lehce plstnatá. Řapík bývá středně dlouhý s narůžovělou barvou. Řapíkový výkroj bývá mírně otevřený, někdy se úplně lehounce překrývají okraje.
Popis bobule	Velikost bobule: střední Barva bobulí: lehce zlatavá, místy až naoranžovělá Dužina: řídká, neobsahuje barviva	Velikost bobulí: malé až středně velké. Tvar bobulí: okrouhlé Barva bobulí: tmavomodrá až modročerná. Dužina: řídká, plné chuti a pouze slabě zbarvená.
Odolnost keře	Odrůda je odolná vůči plísni révové a botrytidě a středně odolná vůči napadení padlím révovým a poškození zimními mrazy.	Odrůda je odolná vůči kontaminaci plísni révovou a padlím révovým.
Půdní podmínky	Na dobře osluněné svahovité poloze s hlinitou (živinami bohatou půdou) nebo hlinitopísčité či písčité půdy.	Nenáročná na půdní podmínky.
Sklizeň	Začíná přibližně v polovině října.	V polovině října až začátku listopadu.
Barva vína	Slámově žlutá.	Temně červená.
Organoleptické vlastnosti vína	Vůně je jemná, mírně kořenitá. Chuť je středně plná až plná, svěží kyselinka (střední acidita) a jemná hořčina. Květinové a ovocné tóny, tóny, skořice, ve starších vínech chlebovina	Plná a harmonická vína, jemně aromatická s ovocitou a kořenitou chutí. Někdy se projeví až travnatou příchutí.

7 TECHNOLOGICKÉ NÁSTROJE

Technologický postup se opírá o dokumentaci ověřené technologie, která souhrnně shromažďuje a ověřuje informace o inovativní hybridní technologii výroby vína, která využívá znalosti historického postupu vína s novodobými biotechnologickými procesy za účelem podpořit autentičnost výroby vína na Moravě. Dílčí kroky technologického postupu jsou uvedeny v přehledové tabulce (Tab. 2). Pro srovnání bylo současně uděláno víno pomocí použití moderní technologie s komerčně nabízeným kvasinkovým preparátem (Tab. 3).

Tab. 2: Souhrnný popis použitého nářadí v hybridní vinařské technologii

Operace	Technické prostředky
Příjem hroznů	Ruční sběr do plastových vinařských beden
Odstopkování a narušení slupky hroznů	Ploché drátěné síto; dřevěné vědro umístěné pod sítem
Mletí hroznů	Dřevěný mlýnek na hrozny s kovovými válci s ručním pohonem; městůvka (dřevěná tyč na upěchování hroznů ve mlýnku); dřevěné vědro pod mlýnkem (záchyt pomletých hroznů)
Lisování	Dřevěné vědro zpod mlýnku - z velkého vědra přesune rmut do menších věder (lepší manipulace); lisování lisem šroubovým vertikálním s ocelovým závitem a maticí, ostatní části dřevěné; tok moštu z lisu byl sbírán do věder
Manipulace s moštem	Dřevěné vědro, měděná nálevka (pro přelití moštu do dřevěných sudů)
Fermentace	V dřevěném sudu
Školení vína	Stočení z hrubých kalů a z jemných kalů - stáčení z dřevěných sudů do dřevěných sudů pomocí čerpadla (ulehčení stáčení z kalů) Filtrace - Deskový filr - Filtr 40-Hobra, Filtr 10-Hobra
Skladování vína	Dřevěný dubový sud

Tab. 3: Souhrnný popis použitého nářadí v novodobé vinařské technologii

Operace	Technické prostředky
Příjem hroznů	Ruční sběr do plastových vinařských beden
Odstopkování a mletí	Nerezový mlýnko-odzrňovač se sběrnou nádobou, převod do lisu čerpadlem
Lisování	Pneumatický nerezový lis
Manipulace s moštem	Dřevěné vědro, měděná nálevka (pro přelití moštu do dřevěných sudů)
Fermentace	V nerezových vinifikátorech s inertní atmosférou, s komerčně nabízeným vinařským preparátem X5 (Laffort)
Školení vína	Stočení z hrubých kalů a z jemných kalů - stáčení z nerezových vinifikátorů do nerezových vinifikátorů, pomocí čerpadla Filtrace - Deskový filr - Filtr 40-Hobra, Filtr 10-Hobra
Skladování vína	Nerezový cylindrický tank s inertní atmosférou

8 PŘÍPRAVA KVASINKOVÉHO PREPARÁTU

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 sterilizaci bioreaktoru 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 již 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).

9 HISTORICKÝ POSTUP POLOPROVOZU A FOTODOKUMENTACE

Kvalita suroviny a její sběr:

První činnosti v rámci testování poloprovozní technologie byl příjem hroznů. Hrozny byly hodnoceny odborníkem (vinařským technologem) v době před sklizní, v tzv. době dozrávání a v době sklizně. Pravidelným monitoringem fyziologické a technologické zralosti bylo dosaženo kvalitních parametrů suroviny, jak u bílých, tak u modrých hroznů. Technologickými parametry, které byly monitorovány, byly – cukernatost (°NM), hodnota pH a celkové kyseliny (g/l). Jednotka °NM (stupnice normalizovaného moštoměru) se užívá při stanovení cukernatosti a udává obsah cukru v kg na 100 l. Cukernatost byla během pravidelného sledování suroviny měřena přenosným refraktometrem. Pravidelně, avšak v kratším intervalu, byly vyhodnocovány celkové kyseliny a vzájemný poměr mezi kyselinou jablečnou a kyselinou vinnou. Kyseliny byly stanoveny pomocí infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR). Zároveň z odebraného vzorku byla stanovena hodnota pH. Stav hroznů byl technologem hodnocen podle organoleptických vlastností. Po správném stanovení doby sklizně následovala samotná sklizeň (hodnoty cukernatosti, pH a kyselin při sklizni, Tab. 4). Dále byly, pomocí FTIR, stanoveny hodnoty asimilovatelného dusík (YAN), přičemž pro správný průběh fermentace je potřeba 200 – 300 mg/l YAN. Obě odrůdy měly dostačující hodnoty YAN a nemusel být přidán žádný suplement zdroje dusíku.

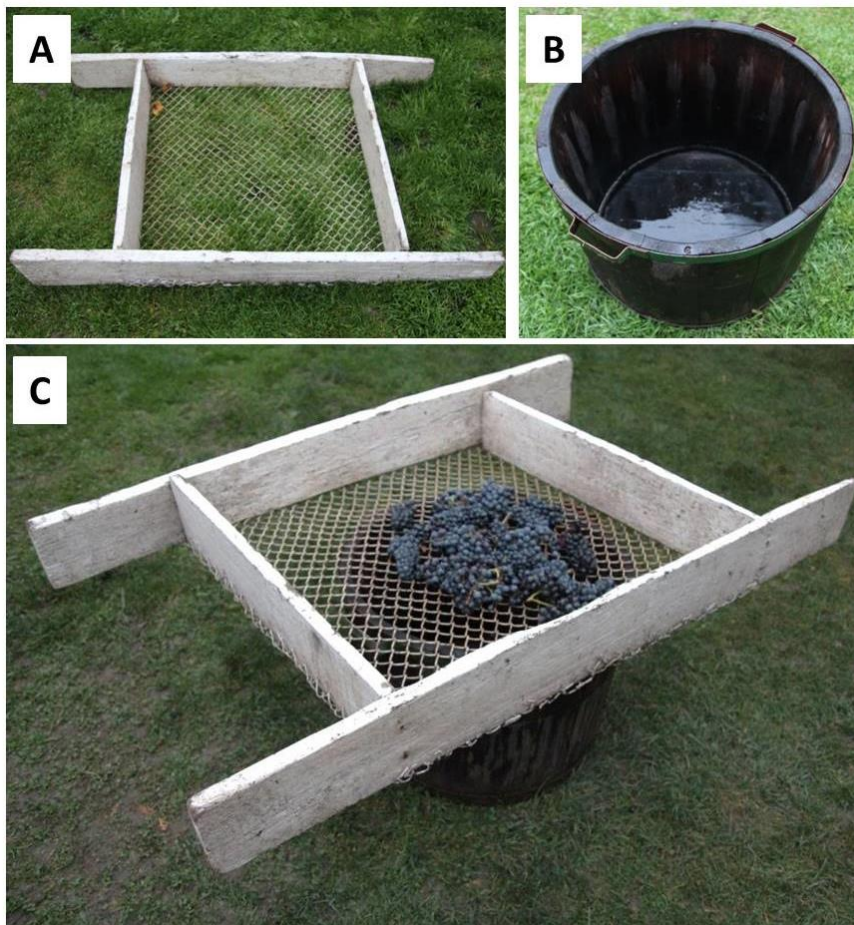
Tab. 4: Výsledky chemické analýzy hroznů při sklizni

Odrůda	Cukernatost (°NM)	Celkové kyseliny (g/l)	Hodnota pH
Malverina	21	6,5	3,3
Cerason	22	5,8	3,4

Doba sklizně Malveriny a Cerasonu se lišila. Sběr Malveriny byl v první polovině září, kdežto sběr Cerasonu probíhal až na konci září. Hroznů Malveriny bylo ručně posbíráno do platových vinařských beden cca 600 kg pro výrobu 2 x 200 l vína (srovnání hybridní a moderní technologie). Hroznů Cerasonu bylo ručně posbíráno do platových vinařských beden cca 640 kg pro výrobu 2 x 200 l vína.

Odstopkování hroznů a mletí:

Po sběru suroviny následoval další operační krok, který byl již uskutečněn v prostorách vinařství. Obě odrůdy byly odstopkovány přes ploché dřevěné síto (Obr. 3 – A) ležící na dřevěném vědru (Obr. 3 – B, Obr. 3 - C). Manipulace se sítem byla prováděna 2 osobami. Jeden držel síto a druhý ručně protlačoval hrozny přes síto. Pokud byla slupka tvrdší jako u modrých hroznů odrůdy Cerason, bylo potřeba použít větší lidské síly a krouživými pohyby po sítu bobule promáčknot. Rozmačkané bobule propadávaly přes síto do dřevěného vědra. Po dobu mačkání, bylo vědro několikrát vyprazdňováno. Bylo dbáno také na pravidelné odstranění stopek ze síta, aby zbytečně nezabíraly plochu pro narušení bobulí. Jestliže byly bobule dobře narušené, usnadnilo to práci při mletí.



Obr. 3: Ploché dřevěné síto (A) a dřevěné vědro (B); Umístění síta na vědru (C)

Mletí rozrušených hroznů probíhalo pomocí dřevěného mlýnku s kovovými válci (Obr. 4), který byl opět umístěn na dřevěném vědru. Hrozny byly do mlýnku postupně sypány. Mlýnek byl vybaven klikou pro manuální pohon. Pro efektivitu práce byly potřeba dva pracovníci. Jeden stál u mlýnku a točil klikou pro pohyb válců. K obsluze mlýnku náležela také práce s mestůvkou (Obr. 5, Obr. 6). Mestůvka je dřevěná kúlová tyč, kterou si vinař pomáhal při protlačení hroznů při mletí, čímž se usměrnily hrozny přímo na válce a pomáhali se na válce přitlačit. Tím se zrychloval celý proces mletí. Druhá zodpovědná osoba měla na starost plnění mlýnku hroznů. Vzniklý rmut propadával do dřevěného vědra. Rmut z modré odrůdy Cerason byl ponechán v dřevěném vědru pro nakvácení. Odrůda Malverina byla následně lisována.



Obr. 4: Dřevěný mlýnek s kovovými válci



Obr. 5: Mestůvka

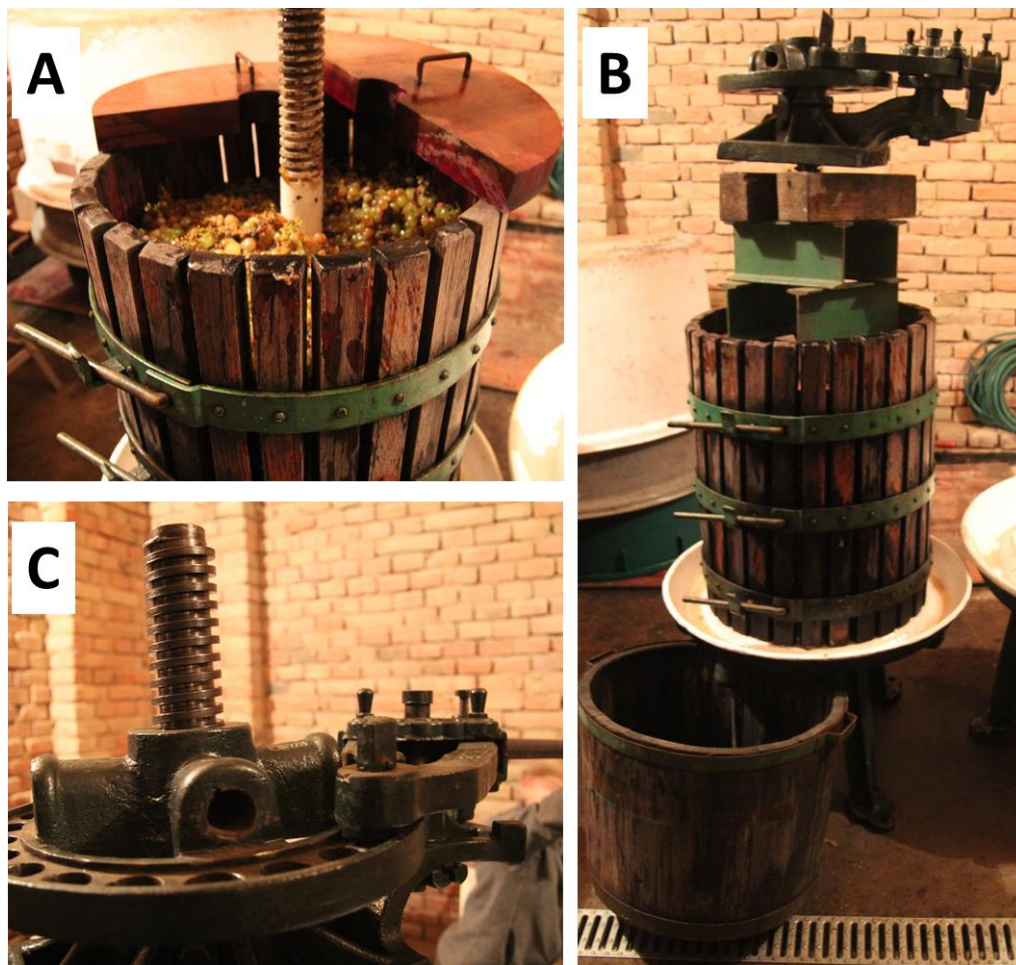


Obr. 6: Dřevěný mlýnek osazen na dřevěném vědru

Lisování:

Získaný rmut z pomletých hroznů byl pomocí dřevěného vědra naplněn do lisu. Lisování probíhalo ve šroubovém vertikálním lisu, který měl ocelový závit s maticí, přičemž ostatní části byly dřevěné. Mechanismus práce lisu spočíval v překládání tyče, která přes kladkový systém (přípevněný na matici) posouvá po šroubu lisovací pohyblivé víko směrem dolů. Tím docházelo ke stlačení rmutu a vylisování moštu. Dno lisu bylo také kovové, obsahovalo žlábek, který usměrňoval tok moštu z lisu do dřevěného vědra, které bylo umístěné pod lisem.

U bílých hroznů z odrůdy Malverina následovalo po mletí okamžité lisování. Po lisování se mošt nechal ve dřevěných velkých vědrech po dobu 24 h odkalit gravimetrickou sedimentací na NTU kolem 450 – 500. U odrůdy Cerason (modré hrozny) bylo uskutečněno lisování až po týdenním nakvašení rmutu, dále byla operace stejná jako u bílé odrůdy.



Obr. 7: Šroubový lis, lisování rmutu: A) detail šroubu, B) celkový pohled na lis s vytékajícím moštem do vědra, C) detail kladkového systému s otvory na tyč

Fermentace:

Mošty byly rozděleny na 3 části: malý objem (5 l) pro rehydrataci kvasinek, největší část objemu - 170 l pro fermentaci v sudu a poslední část - 45 l, pro dolití rozkvašeného moštu po konci bouřlivé fermentaci v sudu. Odkalené mošty byly pomocí měděné nálevky převedeny do starých dřevěných, předem vyčištěných a vysterilovaných (zasířených) sudů. Sudy byly trvale uloženy ve vinném sklepě při teplotě 12 – 14 °C.

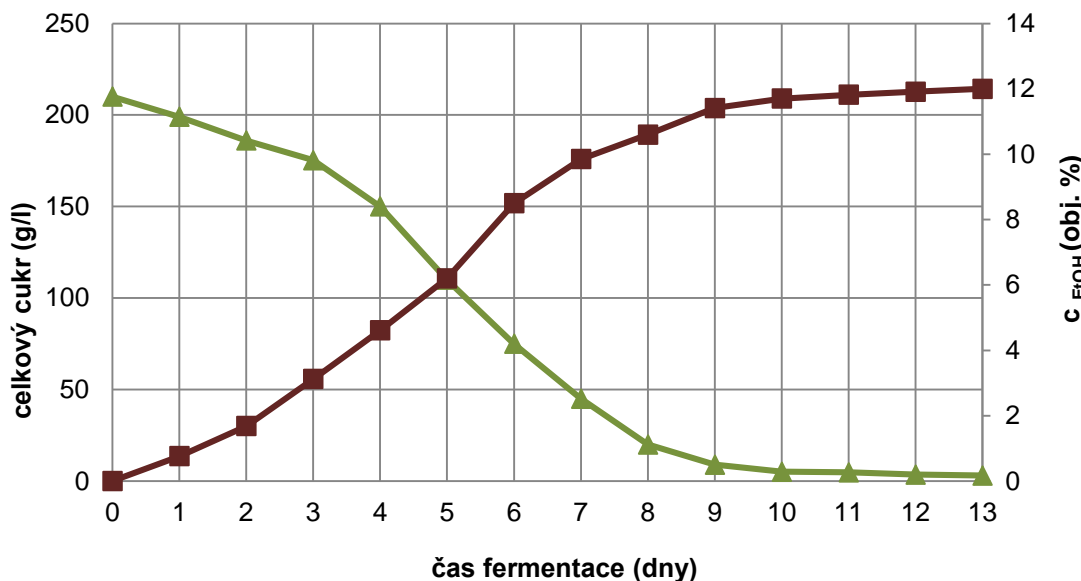
První část sloužila k rehydrataci kvasinkového preparátu. V 10 litrové nádobě bylo smícháno 5 l moštu s 5 l vlažné vody a byl přidán kvasinkový preparát. Rehydratace lyofilizovaných kvasinek probíhala přibližně hodinu. Druhá část moštu (170 l) byla převedena do sudů pomalým přelitím z dřevěného vědra pomocí měděného trychtýře umístěného ve vrchním nalévacím otvoru. Mošt byl do sudů plněn na objem 170 l. Následně byla provedena inokulace moštu rehydratovanými kvasinkami. Do sudu bylo převedeno $\frac{3}{4}$ objemu z naředěného moštu s kvasinkami (přelití přes měděný trychtýř). Sud byl opatřen gumovou zátkou, která byla lehce přiložena na otvor, aby při fermentaci mohl unikát vznikající oxid uhličitý.



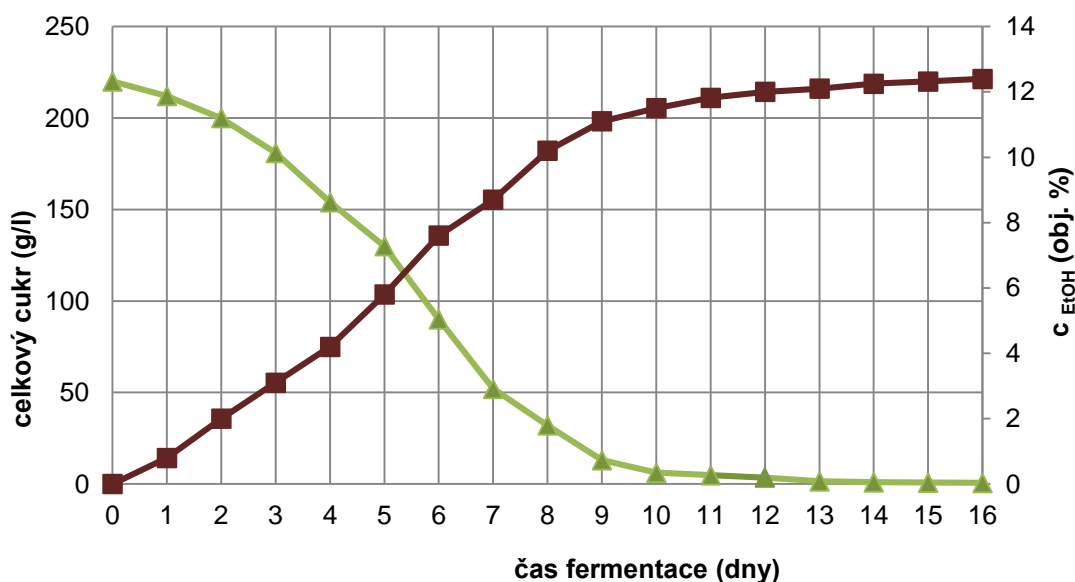
Obr. 8: Dubové sudy na fermentaci a školení vín

Poslední třetí část moštu (přibližně 45 l) byla z vědra přelita do 50 l skleněného demižónu. Mošt byl inokulován zbylým množstvím naředěného moštu s kvasinkou. Skleněný demižón byl opatřen kvasnou zátkou s destilovanou vodou, proti vnější kontaminaci. Proces fermentace nebyl nijak regulován a přistupovalo k němu jako ke spontánnímu kvašení. Mošty byly sledovány z hlediska průběhu fermentací. 24 hodin po inokulaci kvasinek bylo cítit jemné perlení na jazyku. Po 48 h se začala objevovat pěna. Začal nastupovat bouřlivý průběh fermentace. Po skončení této části byl přilít rozkvašený mošt z 50 l demižónu

převeden nejprve do dřevěného vědra a poté pomalu přelit před měděnou nálevku do sudu. Pro přelévání moštu byla potřeba obsluha 3 osob, 2 lidi přelávali rozkvašený mošt z vědra do sudu, třetí osoba kontrolovala měděnou nálevku a tok moštu do sudu. Proces fermentace trval u bílé odrůdy 13 dnů a u modré odrůdy 16 dnů. Průběh fermentace byl monitorován v intervalu 24 h až po konec kvašení pomocí přístrojové techniky FTIR. Pro příkladně zobrazení průběhu fermentace sloužily vzorky použité v hybridní technologii (Obr. 9, Obr. 10).



Obr. 9: Průběh fermentace moštu Malverina kvasinkovým izolátem V312 z hlediska změny koncentrace celkových cukrů (zelená barva) a etanolu (hnědá barva)



Obr. 10: Průběh fermentace moštu Cerason kvasinkovým izolátem V1111 z hlediska změny koncentrace celkových cukrů (zelená barva) a etanolu (hnědá barva)

Z grafů průběhu fermentace lze pozorovat, že proces proběhl v pořádku a nebyly pozorovány žádné negativní efekty, které by později mohly ovlivnit sensorický profil vína. Po fermentaci se nechalo víno 3 dny ležet na hrubých kalcích. Kaly se pomocí gravitačních sil (proces sedimentace) usadili ke dnu sudu a mohlo být provedeno první stáčení vína z hrubých kalů.

Post-fermentační procesy:

Stáčení z kalů bylo, pomocí moderní technologie, upraveno a víno bylo přečerpáno ze sudu do sudu pomocí čerpadla s plastovými hadicemi. Manipulace s moštem tak byla výrazně urychlena. Víno bylo zasířeno na výslednou koncentraci 20 mg/l celkové SO₂ práškovým preparátem disířičitanu draselného. Prášek byl před aplikací do vína rozmíchán v malém objemu odebraného vína (pomocí skleněného košťáče), docházelo tak k lepšímu převedení preparátu do sudu. Sud s vínem byl plně uzavřen zátkou. Prázdný sud s kaly byl promyt vodou pro naředění kalů, kaly vytékaly spodním výčepním otvorem sudu. Sud byl promyt dále ještě dvakrát, následně se nechal vyschnout a byl vysterilován sířením. Při síření sudu bylo třeba dbát na zvýšenou opatrnost při manipulaci s toxickou látkou.

Po stočení z hrubých kalů se nechala vína maturovat 6 týdnů. Následovalo stočení z jemných kalů. Vína byla zasířena 20 mg/l celkové SO₂. Příklad SO₂ zajišťuje reduktivní prostředí vína, prevence proti vadám ve víně způsobené oxidací.

Po dvouměsíčním ležení následovalo číření vína bentonitovým preparátem. Preparát se před použitím dle návodu zamíchal s vodou a nechal nabobtnat. Poté byl přidán do vína.

Použití smektitového minerálu pro účely číření koreluje s ověřenou technologií a je v souladu s historickými postupy, kde bylo využíváno rovněž jílových minerálů.

Po odkalení byla vína filtrována. Filtrace již byla schválena projektovým týmem v ověřené technologii jakožto potřebný krok pro zlepšení organoleptických vlastností produktu s návazností na vlastní sensorické hodnocení. Prvním filtračním krokem bylo přefiltrování vína přes deskový filtr Hobra-40. Tím bylo víno zbaveno hrubých kalů. Filtrace byla prováděna do nového sterilního dubového sudu. Sud, ve kterém se víno čířilo, se opět vypláchnul několikrát vodou, aby byl zbaven nečistot a nechal oschnout a sterilovat. Po 14 dnech bylo víno filtrováno pomocí deskového filtru Hobra-10, tzv. jemnou filtrací. Tím se víno zbavilo jemných kalů a bylo připraveno k finalizaci. Opět probíhalo přečerpávání z jednoho sudu do druhého.

Vína se po poslední filtraci nechala 14 dní školit a následně byla připravena pro sensorické hodnocení.

Skladování vína:

Vína zůstala uložena v čistých dřevěných sudech, kdy probíhal samovolný proces finální stabilizace vína. Takto mohou být vína dlouhodobě skladována, nebo později lahvoována.

10 HODNOCENÍ PRODUKTU

Komplexnost pokusu v poloprovozu, různorodost technologie a izolátů vinné kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* byla hodnocena na základě, chemické analýzy a senzorických projevů hotových vín.

Chemická analýza:

Chemická analýza finálního vína byla založena na stanovení obsahu etanolu, zbytkového cukru a celkových kyselin (Tab. 6). Dále pak na sledování produkce vyšších alkoholů a esterů (Tab. 5), které vznikají v průběhu fermentace, a do jisté míry tak zohledňují použití kvasinkových kmenů.

Analýza vyšších alkoholů a jejich esterů byla provedena pomocí instrumentální metody, plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem. Pro detailní interpretaci aromatických látek, jakožto nositele senzorického vjemu, byly vyjádřeny výsledky esterů vyšších alkoholů jako esterového scóre prostřednictvím vztažení naměřených hodnot jednotlivých esterů vůči jejich prahové koncentraci (Tab. 5). Etanol, zbytkové cukry a celkové kyseliny ve víně (Tab. 6) byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie a refraktometrickým detektorem.

Tab. 5: Hodnoty vyšších alkoholů a jejich esterů ve sledovaných vínech

vyšší alkoholy		
chemická sloučenina	koncentrace ve víně (mg/l)	senzorický 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		
chemická sloučenina	koncentrace ve víně (mg/l)	senzorický 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

Tab. 6: Výsledná data hotového vína

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)	Celkové kyseliny (g/l)
V3I2	Malverina	120,01	4,51	68,27	12,0	3,0	6,0
X5		112,72	2,72	88,8	11,9	5,0	6,1
V11I1	Cerason	159,59	3,59	87,4	12,4	0,6	5,3
X5		153,42	2,42	86,14	12,5	0,5	5,2

Tab. 7: Vyjádření poměrů naměřených hodnot esterů v podílu ku

Odrůda	chemická sloučenina	isoamylacetát (isopentylacetát))	ethylhexanoát	hexylacetát	ethyloktanoát	ethylacetát	suma esterů
	senzorický projev	banán, hruška	zelené jablko	sladký, parfémový	mýdlový	ovocný	
Malverina	V3I2	40,00	42,00	0,80	32,50	15,40	130,70
	X5	29,67	14,00	0,73	31,00	14,67	90,06
Cerason	V10I1	27,67	32,00	0,79	30,50	20,80	111,75
	X5	24,33	10,00	0,80	31,50	20,13	86,77

Podle chemického rozboru vína, bylo možné porovnat vliv autochtonních kvasinek vůči komerčním kmenům a také vliv v rámci odrůdy. Všechna testovaná vína byla prokvašena do sucha. V případě porovnání dvojice V3I1 a X5 na bílé odrůdě byla produkce etanolu velmi podobná. Podobných výsledků bylo dosaženo u dvojice V11I1 a X5 na modré odrůdě. Rozdíl produkce etanolu je pouhých 0,1 % obj., přičemž tento malý rozdíl může být také v rámci chybovosti.

Dále bylo posouzeno esterového scóre, které udává podíl mezi naměřenými hodnotami esterů vůči prahovým koncentracím vůně. Esterové scóre pracuje na pravděpodobnosti ovlivnitelnosti vjemu u jednotlivých látek. Nejvyšší scóre bylo vyhodnoceno u V3I2 a druhé nejvyšší u kvasinky V11I1. Tvorba esterů je vázána na metabolickou schopnost kvasinek. Jestliže má kvasinka dostatek prekurzorových látek v matici, pak rozdíly v rámci odrůd

obvykle nejsou znatelné. Při použití autochtonních kvasinek lze předpokládat výraznější ovocnější a květinové aroma než u komerční kvasinky X5.

Senzorická analýza:

Pro účely senzorického hodnocení byl využit pěti členný panel odborné komise. Výsledné hodnocení bylo uzpůsobeno také senzorickému profilu stylu vína pro historickou výrobu a autentičnost projevu. Senzorická analýza byla sestavena ze dvou hodnotících prvků:

- 1) 100 bodový systém hodnocení (Tab. 8, Tab. 10)
- 2) Hodnocení aromatického profilu vína, struktury a barevnosti (Tab. 10, Obr. 7 – 10)

Senzorické hodnocení bylo založeno na hodnocení dvojic:

- odrůda Malverina; V3I2 (historický tech. postup) – X5 (moderní tech. postup)
- odrůda Cerason; V11I1 (historický tech. postup) – X5 (moderní tech. postup)

Tab. 8: Tabulka 100 bodového hodnotícího systému

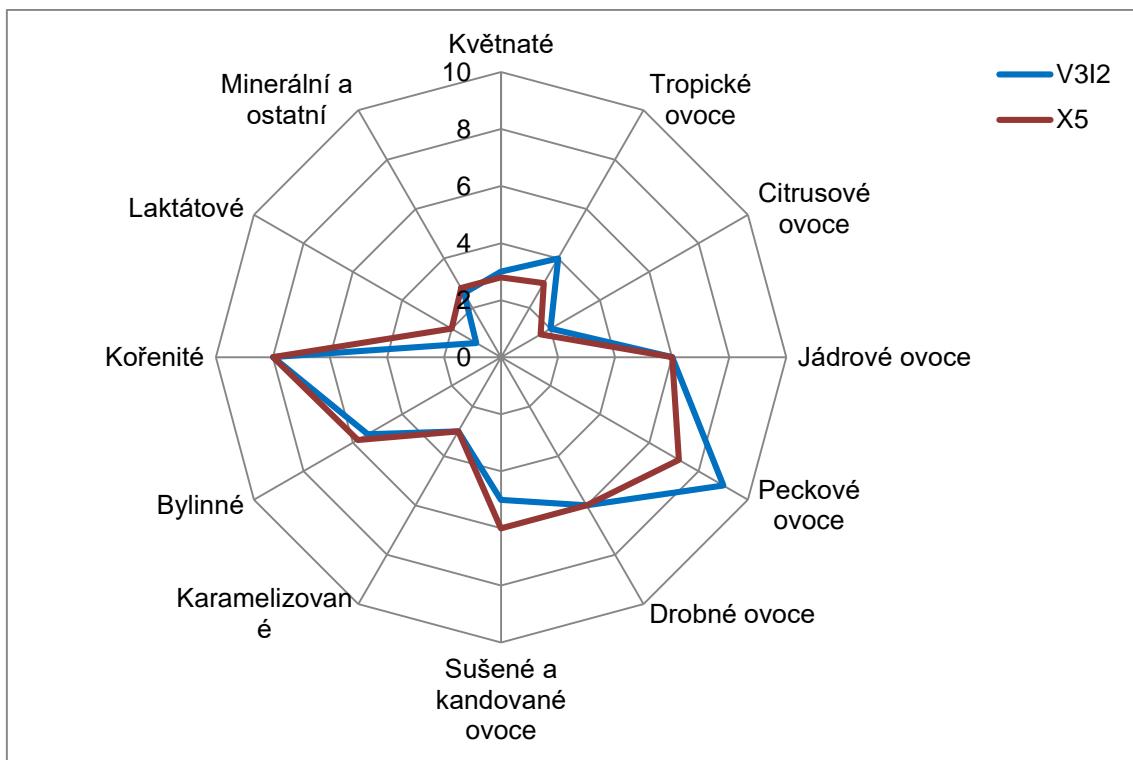
100 BODOVÝ SYSTÉM HODNOCENÍ						
Hodnocení		Vynikající	Velmi dobré	Dobré	Uspokojivé	Nedostatečné
Vzhled	Čírost	5	4	3	2	1
	Barva	10	8	6	4	2
Vůně	Intenzita	8	7	6	4	2
	Čistota	6	5	4	3	2
	Harmonie	16	14	12	10	8
Chuť	Intenzita	8	7	6	4	2
	Čistota	6	5	4	3	2
	Harmonie	22	19	16	13	10
	Perzistence	8	7	6	5	4
Celkový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

Tab. 9: Definice pojmů využívají 100 bodový systém

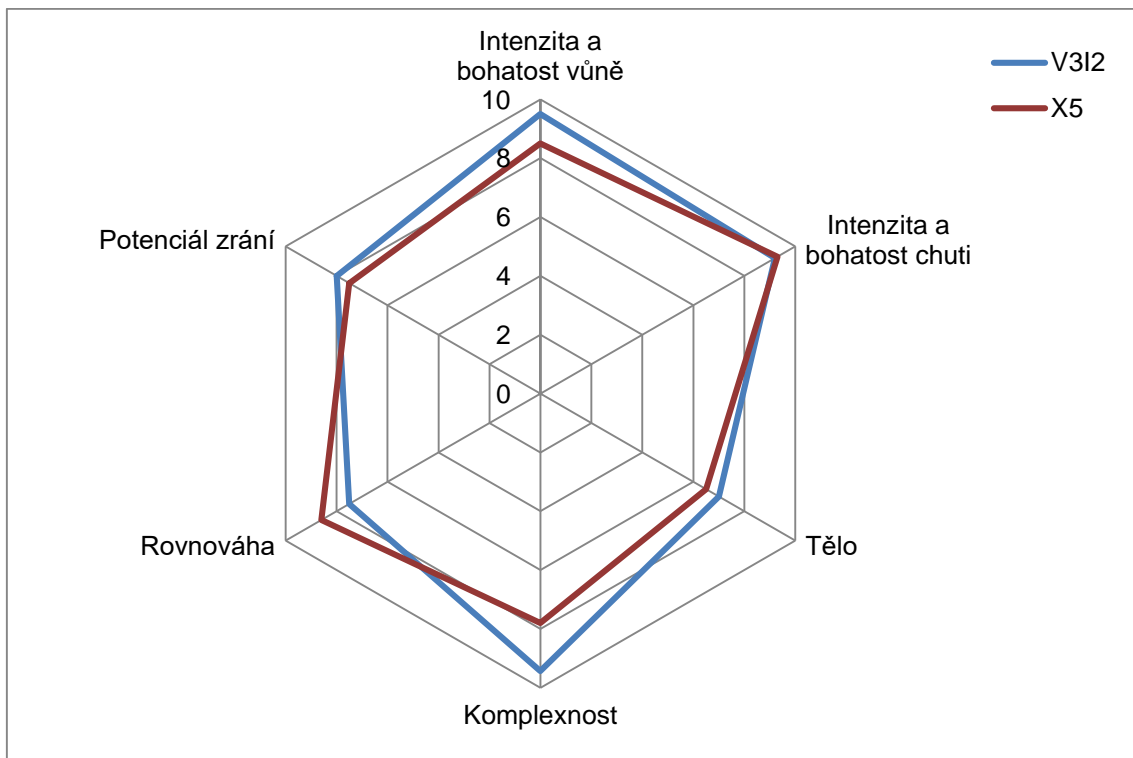
	Pojem	Definice
Vzhled	Čiřost	Stanovení intenzity zakalení, nejlepší = vynikající čiřost (5 b.)
	Barva	Primární = intenzita barvy, Sekundární = odstíny a tóny barev
Vůně	Intenzita	Pozitivní intenzita – spojována s přítomností alkoholu a extraktivních látek (odraz výroby stylu vína)
	Čistota	Hodnotí čistý 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: Hodnocení aromatického profilu vína, struktury a barevnosti

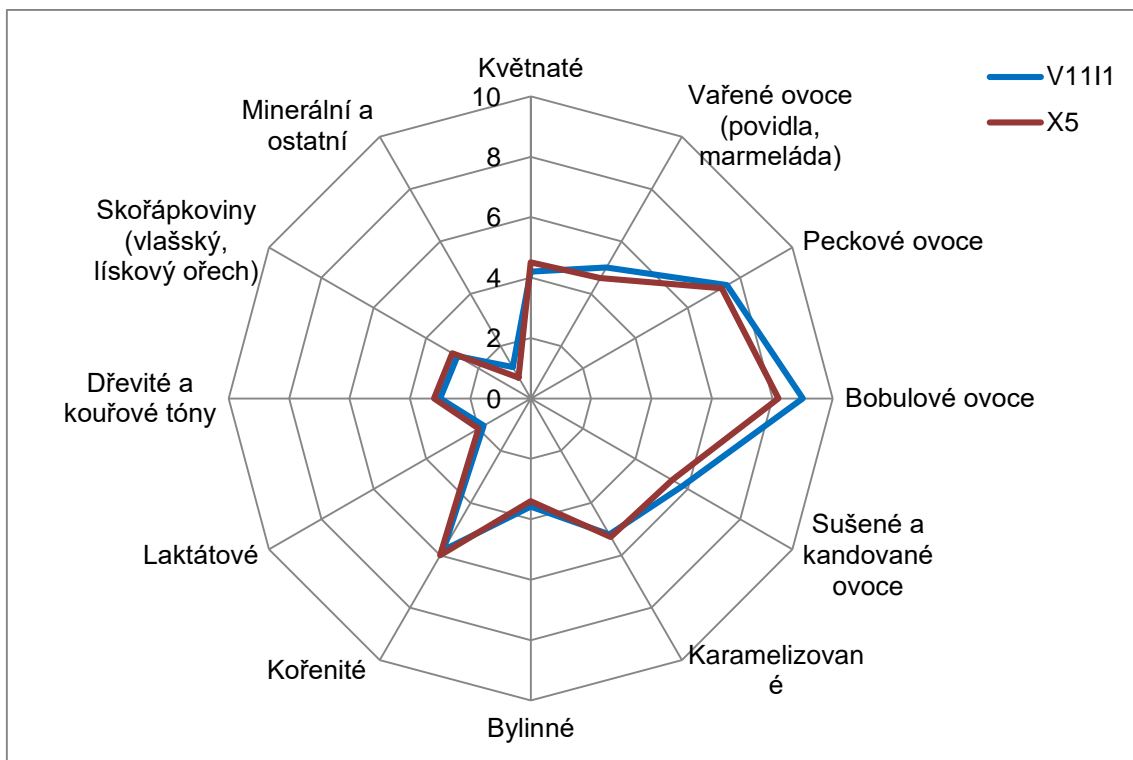
STRUKTURA A MOHUTNOST VÍNA		
Intenzita a bohatost vůně	Komplexnost	1 je nejméně 10 je nejvíce
Intenzita a bohatost chuti	Rovnováha	
Tělo	Potenciál zrání	
AROMATICKÝ PROFIL VÍNA		
BÍLÉ VÍNO	ČERVENÉ VÍNO	1 je nejméně 10 je nejvíce
Květnaté	Květnaté	
Tropické ovoce	Vařené ovoce (povidla, marmeláda)	
Citrusové ovoce	Peckové ovoce	
Jádrové ovoce	Bobulové ovoce	
Peckové ovoce	Sušené a kandované ovoce	
Drobné ovoce	Karamelizované	
Sušené a kandované ovoce	Bylinné	
Karamelizované	Kořenité	
Bylinné	Laktátové	
Kořenité	Dřevité a kouřové tóny	
Laktátové	Skořápkoviny (vlašský, lískový ořech)	
Minerální a ostatní	Minerální a ostatní	
Intenzita barvy	Květinové	
Hnědý odstín	Vařené ovoce (povidla, marmeláda)	
Barevný vjem	Peckové ovoce	



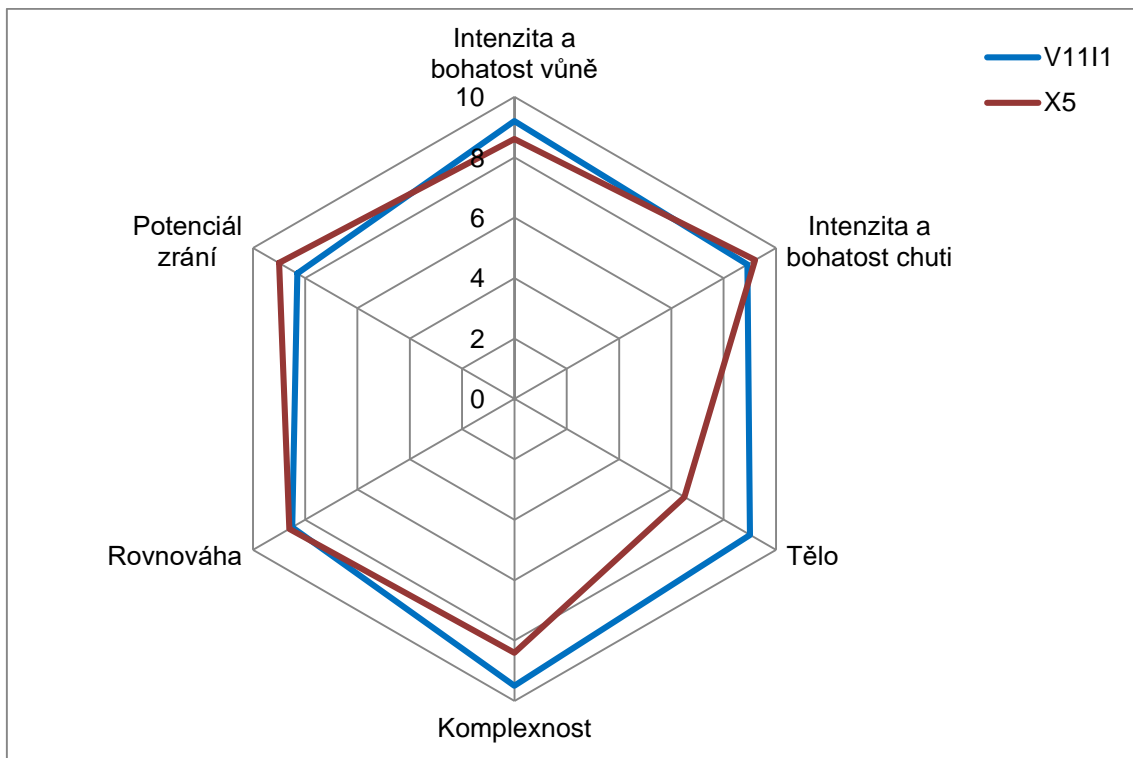
Obr. 11: Aromatický profil vína Malverina



Obr. 12: Struktura a mohutnost vína Malverina



Obr. 13: Aromatický profil vína Cerason



Obr. 14: Struktura a mohutnost vína Cerason

Tab. 9: Výsledky 100 bodového hodnotícího systému

100 BODOVÝ SYSTÉM HODNOCENÍ			
Použitá technologie	Odrůda	Kvasinka	Hodnocení
Historický postup	Malverina	V3I2	92,5
Moderní přístup	Malverina	X5	92
Historický postup	Cerason	V1111	93,6
Moderní přístup	Cerason	X5	91

Výsledky ze sensorického hodnocení, podle aromatického profilu vína, struktury a barevnosti a 100 bodového systému hodnocení, byly pro obě odrůdy sestaveny na porovnání hodnocení dvojic:

- odrůda Malverina; V3I2 (historický tech. postup) – X5 (moderní tech. postup)
- odrůda Cerason; V1111 (historický tech. postup) – X5 (moderní tech. postup)

Senzorický panel dvojici V3I2 (historický tech. postup) a X5 (moderní tech. postup) hodnotila následovně. U vzorku vína vyrobeného historickým postupem byla výraznější a intenzivnější vůně, intenzita chuti byla u obou postupů srovnatelná. Vyššího potenciálu zrání a vyšší komplexnosti v chuti bylo zaznamenáno u vína s historickým postupem. Víno bylo otevřenější, aromatictější, v chuti a v aromatu rozmanitější. U obou technologických postupů byla zachována odrůdovost vína. U obou vín byla pozitivně hodnocena jemná hořčina a příjemná kyselinka. Vína byla svěží, jemně kořenitá s projevem Malverinové odrůdové skořicové chuti. Ve 100 bodovém hodnocení dopadlo víno vyrobené historickým postupem o 0,5 bodů lépe. Výsledné hodnocení obou vín dopadlo velmi dobře. Avšak víno vyrobené historickým postupem lze finálně hodnotit za rozmanitější v organoleptickém projevu s autentičtější projevem terrior.

Hodnocení dvojice V1111 (historický tech. postup) a X5 (moderní tech. postup) v aromatickém profilu dopadlo velice podobně. Víno vyrobeno historickým postupem bylo otevřenější s výraznějším aromatickým projevem a ovocitějším nádechem. U vína byla vnímána větší komplexnost chutí. U obou vín byl zachován odrůdový projev. Ve 100 bodovém hodnotícím systému dopadlo víno vyrobeno historickým postupem o 2,6 bodu lépe. Obě vína byla hodnocena jako velmi dobré. Víno vyrobeno historickým postupem působilo ve finálním hodnocení ucelenějším dojmem s výrazně rozmanitou a komplexní organoleptickou charakteristikou, a na základě toho byla ve víně podpořena autentičnost projevu.

Obě vína vyrobené historickým postupem byla hodnocena kladně. U obou vín byla sledována autentičnost projevu a rozmanitý organoleptický charakter v závislosti na zvoleném historickém postupu.

11 BEZPEČNOST POUŽITÍ POLOPROVOZU

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 se surovinou a s hotovým produktem dle:

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

12 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:

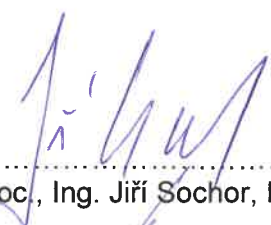
- Skladování kvasinek v suchu a chladu. Otevřená balení je nutné těsně uzavřít a co nejdříve spotřebovat.

13 UPLATNĚNÍ POLOPROVOZU V PRAXI

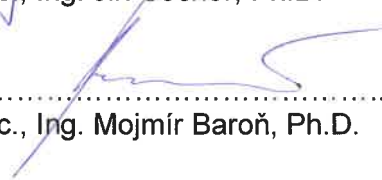
Název organizace, IČ, DIČ organizace	Sídlo organizace	Stát	Rok uplatnění výstupu	Razítko, datum, podpis zástupce organizace
Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, IČ: 621 56 489 DIČ: CZ62156489	Valtická 337, 691 44 Lednice	ČR	2020	28.5.2020 

V Lednici, dne 28. 5. 2020

Podpis autorů



 doc., Ing. Jiří Sochor, Ph.D.



 doc., Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

