

Značaj i uloga plijesni u proizvodnji vina

Sažetak

Proizvodnja vina često se nosi s problemima koje uzrokuju različite vrste plijesni. Mnoge od njih djeluju štetno jer uzrokuju različite bolesti ili izlučuju toksične i potencijalno zdravstveno opasne spojeve te smanjuju ukupni prinos i kvalitetu vina. Najznačajnije među njima su plijesni *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* i *Botrytis cinerea*. Međutim, *Botrytis cinerea* može doprinijeti i značajnom poboljšanju organoleptičkih svojstava vina i omogućiti proizvodnju cijenjenih predikatnih vina. U ovom radu, na osnovu postojećih literaturnih izvora i spoznaja, opisano je pozitivno i negativno djelovanje prisustva plijesni na konačne karakteristike vina.

Ključne riječi: plijesni, mikoze, mikotoksikoze, botritizirana vina

Uvod

Gljive su carstvo u domeni eukariota koje obuhvaća oko milijun i pol vrsta, pri čemu je znanstveno opisano tek oko 70 000. Radi se o jednostaničnim ili višestaničnim eukariotskim organizmima čije se stanice nazivaju hife. Skup hifa čini vegetativno tijelo gljiva koje se naziva micelij. Gljive spadaju u heterotrofe pri čemu hranjive tvari uzimaju od drugih zbog čega mogu imati saprofitski, nekrofitski, simbiotski ili parazitski način života (Blackwell, 2011). Razmnožavaju se spolno ili nespolno. Nespolni način razmnožavanja uključuje spore ili puštanje zbog čega se prema načinu stvaranja spora dijele na plijesni, mješinarke i stapčarke (Ashu i Xu, 2015). Mikologija kao znanost u gljivama najviše se bavi proučavanjem plijesni koje mogu uzrokovati različite biljne bolesti. Najčešće napadaju biljna tkiva uzimajući hranjive tvari koje su im potrebne za održavanje normalnih životnih funkcija. Svojim metabolizmom potom sintetiziraju hidrolitičke enzime koje koriste za razgradnju različitih organskih tvari do jednostavnih šećera. Sintetizirane šećere potom koriste kao izvor energije (Liu i sur., 2020). Suprotno tome, primarni metabolizam im omogućuje održavanje esencijalnih životnih funkcija, odnosno rast i razvoj. Mnoge vrste gljiva sekundarnim matabolizmom sintetiziraju brojne kemijske spojeve kao i različite makromolekule. Njihova sinteza uglavnom je povezana s uvjetima vanjske sredine pri čemu do sinteze najčešće dolazi u stresnim uvjetima koji su povezani s temperaturom i vlažnošću koja nije optimalna (Keller, 2019). Karakteristike sintetiziranih sekundarnih metabolita ovise o fenotipskim i genotipskim karakteristikama plijesni koja ih sintetizira. Brojne vrste gljiva mogu sintetizirati antibiotike dok druge vrše sintezu štetnih mikotoksina (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 2013). Do sinteze antibiotika kod gljiva najčešće dolazi uslijed kompeticije s različitim bakterijama na koje ima toksično

¹ Sanja Kajić dr. sc., Marija Rajković univ.bacc.ing.agr., Sanja Sikora prof. dr. sc., Ivana Rajnović doc. dr. sc.

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

Autor za korespondenciju: skajic@agr.hr

djelovanje. Najpoznatiji primjer je antibiotik penicilin kojeg sintetizira plijesan *Penicillium notatum*. Njegovo otkriće predstavlja prekretnicu u medicini i liječenju različitih bakterijskih infekcija. Njegovo antimikrobno djelovanje otkrio je Alexander Fleming davne 1928. godine (Tan i Tatsumura, 2015).

S druge strane, mikotoksini kao produkti sekundarnog metabolizma uzrokuju brojne biljne bolesti koje se nazivaju mikotoksikoze. Mikotoksikoze danas predstavljaju ozbiljan problem za cijelokupnu poljoprivredu i zdravlje ljudi. Prisutnost plijesni na grožđu može utjecati na stabilnost vina, njegova fizikalna, kemijska i senzorička svojstva (Zagrodzki i sur., 2023). Producija mikotoksina kod plijesni odnosno sekundarni metabolizam najčešće je povezan s biotičkim i abiotičkim čimbenicima kao što su temperatura, količina vlage u zraku, dostupnost dovoljne količine vode, količina kisika, pH vrijednost i dostupnost dovoljne količine hranjiva. Na produkciju mikotoksina može utjecati i prisustvo različitih mikroorganizama ili različita mehanička oštećenja biljnih organa (Oliveira i sur., 2015). Povećanje razine CO_2 u atmosferi i kontinuirano povećanje temperature zraka uslijed klimatskih promjena imaju vrlo važnu ulogu u tome. Naime, znanstveno je dokazano da povećanje temperature u kombinaciji s ekstremnim vremenskim uvjetima uzrokuju stres kod biljaka čime one postaju podložnije različitim biljnim bolestima, u ovom slučaju infekciji plijesnima i kontaminaciji sintetiziranim mikotoksinima (Pleadin i sur. 2020).

Plijesni za rast i razvoj zahtijevaju određene uvjete kao što su svjetlost, vlažnost, optimalna temperatura, pH te dostupnost hranjivih tvari (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 2013). Rastu u rasponu pH vrijednosti od 2 do 8,5 (Fugelsang i Edwards, 2007). Kad nastupe nepovoljni uvjeti prelaze u stadij spore u kojem ostaju prisutne u zraku, tlu vinograda kao i vinarijama (Fugelsang i Edwards, 2007) te prokljuju u novu jedinku kad nastupe povoljni uvjeti. Idealni uvjeti variraju između vrsta no većina njih zahtijeva povisenu temperaturu, dosta visoku vlažnost zraka (preko 65 %), minimalno prisustvo svjetla i strujanje zraka (Sephton-Clark i Voelz, 2018).

Plijesni iz rodova *Botrytis*, *Aspergillus* i *Penicillium* najčešći su uzročnici mikotoksikoza i mikoza vinove loze, dok u manjoj mjeri uzročnici mogu biti i pripadnici rodova *Phytophthora*, *Moniliella*, *Alternaria* i *Cladosporium* (Nawaf, 2023).

Cilj rada je na osnovu postojeće literaturice opisati djelovanje prisustva plijesni na konačne karakteristike vina kao i poboljšanje organoleptičkih svojstava i proizvodnju predikatnih vina.

Mikoze i mikotoksikoze

Bolesti vinove loze najčešće uzrokuju plijesni kao što je siva plijesan, plamenjača i pepelnica (Ivančan, 2009). Sivu plijesan uzrokuje gljiva *Botrytis cinerea* koja, osim što uzrokuje bolesti, također ima pozitivni utjecaj na proizvodnju vina. Pepelnica i plamenjača uzročnici su isključivo štetnih pojava na vinovoj lozi dovodeći do velikih gubitaka u prinosu grožđa, a posljedično i proizvodnji vina (Orozco-Mosqueda i sur., 2023).

Do kontaminacije vina mikotoksinima najčešće dolazi zbog prisutnosti plijesni iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* koje uzrokuju smanjenu kvalitetu proizvedenog vina i predstavljaju opasnost za zdravlje potrošača (Kochman i sur., 2021). Mikotoksini kao sekundarni metaboliti plijesni predstavljaju najčešće kontaminante različitih prehrabrenih namirnica, uključujući i vino. Najčešći mikotoksini prisutni u vinu su okratoksi (Petrović i sur., 2023).

Okratoksi se dijele na tri vrste. To su okratoksin A, B i C, pri čemu se okratoksin A (OTA) ističe kao najtoksičniji i najviše zastupljen u vinima (Gil-Serna i sur., 2018; Dachery i sur., 2015). Brojni *in vivo* pokusi pokazali su da okratoksin A ima nefrotoksično, neurotoksično, kancerog-

eno, imunosupresivno i teratogeno djelovanje (Welke, 2019). Na temelju provedenih *in vivo* istraživanja, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) svrstala je okratoksin A u potencijalni kancerogen za ljude. Kako su brojne analize pokazale da prisutna količina okratokksina A ne predstavlja zdravstveni rizik, njegovom konzumacijom pridonosi se izloženost potrošača njegovom toksičnom djelovanju (Dachery i sur., 2017). Crna vina posjeduju najveće količine okratokksina, nešto manje imaju rose vina, dok najmanju količinu sadrže bijela vina. Smatra se da je tome uzrok maceracija crnih vina pri čemu se mošt duže vrijeme ostavlja u doticaju s pokožicom grožđa u kojima se nalazi najveća količina okratokksina.

Aspergillus niger i *Aspergillus carbonarius* smatraju se glavnim uzročnicima prisutnosti okratokksina A u različitim proizvodima od grožđa (Mondani, 2020).

Crna pljesan uzročnik je crne truleži grožđa. Uzrokuje propadanje bobica, a u njih najčešće prodrije zbog različitih fizičkih oštećenja uzrokovanih biljnim bolestima ili različitim okolišnim uvjetima kao što su tuča, kiša ili prejako sunce (Visconti i sur., 2008).

Značaj i karakteristike pljesni *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea spada u pododjel *Deuteromycota*, razred *Hypocreales*, porodicu *Moniliaceae*, dok prema spolnom stadiju u pododjel *Ascomycota*, razred *Discomycetes*, porodicu *Sclerotiniaceae* (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Radi se o polifagu i ubikvistu koji predstavlja potencijalnu opasnost za više od 200 biljnih vrsta. Prisutan je skoro na svim kontinentima, međutim najviše prevladava u umjerenom pojusu. Pored pepelnice i plamenjače predstavlja najznačajniji patogen u vinogradarstvu. Uzrokuje bolest vinove loze koja se naziva siva pljesan pri čemu se kontinuirano javlja skoro svake godine.

Patogenost pljesni *Botrytis cinerea* može ovisiti o klimi u kojoj raste pri čemu u određenim vremenskim uvjetima i klimi može imati pozitivan učinak na vinovu lozu i tad se naziva plemenita pljesan (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Radi se o fakultativnom parazitu što joj omogućuje da nakon odumiranja zaraženih biljnih dijelova može nastaviti živjeti kao saprofit (Elad i sur., 2007). Ima razvijenu sposobnost preživljavanja u nepovoljnim uvjetima koja joj omogućuje da kad se jednom pojavi u vino-gradu ostaje prisutna godinama.

U svom razvojnog stadiju formira micelij i konidiofore s konidijama. Do infekcije u vino-gradima najčešće dolazi na grozdovima i stabljici, odnosno već ranije zaraženim trsovima na kojima gljiva preživjava u obliku sklerocija ili micelija (Jackson, 2014). Kad nastupe povoljni uvjeti u proljeće dolazi do razvoja sklerocija u micelij i konidiofore koje potom dovode do zaraze koja se širi na zdravu biljku.

Infekcija grozdova najčešće je uzrokovana tijekom cvatnje kada cvjetovi postanu osjetljivi na napad patogena pri čemu *Botrytis cinerea* može biti prisutna u grozdovima i prije njihovog razvitka. Prvu fazu zaraze karakterizira saprofitski način života u grozdovima koji su ocvali ne čineći nikakvu štetu. Smatra se da bi već tad trebalo započeti sa suzbijanjem kako ne bi došlo do veće štete u kasnijim fazama (Sipiczki, 2019).

Kad dođe do zatvaranja grozdova i njihovog zbijanja započinje druga faza zaraze koja se naziva kisela ili zelena pljesan u kojoj pljesan započinje parazitski način života pri čemu uzrokuje bolest na peteljkama i bobicama. One najčešće tada postaju smeđe te gube sposobnost akumulacije šećera i ostaju kisele do berbe (Bayer, 2013). Zriobu karakterizira eksplozija bolesti pri čemu pljesan kolonizira grozdove. Smatra se da do toga dolazi zbog naseljavanja sive pljesni na cvjetove odmah nakon cvatnje (Topolovec-Pintarić, 2000). Kad

nastupi puna zrelost bobica dolazi do gubitka njihove otpornosti na razvitak zaraze do čega dovode brojni abiotski i biotski čimbenici.

Plijesan *Botrytis cinerea* odlikuje se slabom sposobnošću prodiranja kroz neoštećene površine kutikule bobica (Coertze i sur., 2001). Smatra se da do prodiranja infektivnih hifa u samu bobicu dolazi kroz pore i puči vinove loze. Kad infekcijska hifa prođe kroz kutikuлу dolazi do lučenja enzima hidrolaze koji započinje s razgradnjom stanične stjenke stanica (Cvjetković, 2007). Najveća opasnost sive pljesni je u stadiju zrelosti bobica i pred berbu. Najčešće se javlja u kolovozu, rujnu i listopadu ukoliko su vanjski uvjeti zadovoljavajući. Tada prvo zahvaća bobice u unutrašnjosti grozdova no ukoliko su duže vrijeme prisutni uvjeti toplih i kišovitih dana brzo se širi prema vanjskom dijelu pri čemu tada zahvaća cijele grozdove.

Ukoliko je na grožđu prisutna infekcija s *Botrytis cinerea* to se može odraziti na aktivnost i djelovanje drugih mikroorganizama jer postaje podložnije infekciji drugim gljivama. Najčešće su prisutni kvasci kao što su *Candida stellata*, *Torulaspora delbrueckii* i *Saccharomyces bayanus*, kao i manje poželjne pljesni iz rođova *Penicillium*, *Aspergillus* i *Mucor* koje uništavaju ukupne prinose grožđa i često dovode do pojave neželjenih aroma i mikotoksina u vinima (Sipiczki, 2019).

Utjecaj sive pljesni na kemijske promjene grožđa i vina

Vina koja se proizvode od grožđa koje je inficirano sivom pljesni obično je nešto niže kvalitete zbog redukcije sadržaja šećera monosaharida, prisutva glicerola i glukonske kiseline kao sekundarnih metabolita pljesni te oksidacije fenolnih spojeva enzimom polifenol-oksidazom čiju sintezu vrši *Botrytis cinerea* (Walker i sur., 2021).

Takva vina lošijih su senzornih svojstva te kod njih najčešće dolazi do oksidacije i kontaminacije različitim bakterijama zbog slabijeg sazrijevanja (Cantoral i Collado, 2011).

Najveće promjene do kojih dolazi uslijed rasta pljesni obuhvaća promjene sadržaja šećera i organskih kiselina u grožđu. U zdravom grožđu šećer se najčešće nalazi u obliku heksoza kao što su glukoza i fruktoza pri čemu dozrijevanjem dolazi do porasta njihove koncentracije. Odnos glukoze i fruktoze obično bude podjednak u fazi pune zrelosti bobica, dok u fazi prezrelosti dolazi do povećanja sadržaja fruktoze čime se povećava dojam slatkoće (Walker i sur., 2021).

Prisustvo sive pljesni ima negativno djelovanje na prisutne šećere. Monosaharidi se koriste kao izvori energije, ali također proizvode i neke polisaharide kao što su galaktoza, manoza, ramnoza i glukoza. Najveći problem predstavljaju β-glukani (polimeri glukoze) jer dovode do otežane filtracije i bistrenja vina (Jackson, 2008).

Tri najčešće prisutne kiseline u grožđu su vinska, limunska i jabučna kiselina. Kod većine sorti najviše je zastupljena vinska kiselina koja je najčešće povezana sa svježim okusom vina. Umjerena kiselost vina obično je povezana s jabučnom kiselinom koja pojačava voćni okus vina. Uslijed kontaminacije sivom pljesni mijenja se kiselinski sastav grožđa pri čemu dolazi do smanjenja sadržaja vinske kiseline. Vino na taj način gubi svježinu te dolazi do porasta jabučne kiseline koja vinu obično daje grub okus.

Zbog prisustva sive pljesni obično dolazi i do povećane sinteze glukonske, glukuronske te galakturonske kiselina i razgradnje pektinskih komponenti stanične stjenke pektolitičkim enzimima koje sintetizira *Botrytis cinerea* (Amarouchi i sur., 2021). Fenolni spojevi koji su prisutni u vinu uglavnom potječu iz grožđa, manji dio njih nastaje kao rezultat aktivnosti pojedinih mikroorganizama, a neki nastaju i dozrijevanjem vina u drvenim bačvama. Polifenoli su obično povezani sa senzoričkim karakteristikama vina koja uključuju boju, okus i

gorčinu (Gutiérrez-Escobar i sur., 2021). Lakaza je enzim iz skupine polifenol oksidaza kojeg sintetizira *Botrytis cinerea*. Enzim je najčešće povezan s oksidacijom fenolnih i aromatskih komponenti što izaziva degradaciju organoleptičkih svojstava i aromatskog profila vina (Radveikienė i sur., 2021). Budući da je lakaza vrlo stabilan enzim do njene inhibicije obično dolazi uslijed visokih koncentracija sumporovog dioksida koji ima negativno djelovanje na senzorska svojstva vina (Radveikienė i sur., 2021).

Utjecaj plemenite pljesni na kemijske promjene grožđa i vina

Sivu pljesan uzrokuje *Botrytis cinerea* koja se najčešće javlja u intezivnom uzgoju vinove loze. Smatra se da najviše štete u vinogradima izaziva pred kraj vegetacije u uvjetima učestalih kiša. Suprotno tome, *Botrytis cinerea* pored sive pljesni može rasti kao i plemenita pljesan. Smatra se da su za njen razvoj potrebni specifični uvjeti kao što su klima, temperatura i vlažnost zraka, zadovoljavajuća tekstura tla i opskrbljeno tla dovoljnom količinom hranjivih tvari.

Tablica 1. Razlike u moštu zdravog i botritiziranog grožđa (Jackson, R.S., 2008).

Table 1. Differences in must between healthy and botrytized grapes (Jackson, R.S., 2008).

Komponenta	Sorta Sauvignon		Sorta Sémillion	
	Zdravo	Inficirano	Zdravo	Inficirano
Težina 100 bobica (g)	225	112	202	98
Šećeri (g/L)	281	326	247	317
Kiseline (g/L)	5,4	5,5	6,0	5,5
Vinska kiselina (g/L)	5,2	1,9	5,3	2,5
Jabučna kiselina (g/L)	4,9	7,4	5,4	7,8
Limunska kiselina (g/L)	0,3	0,5	0,26	0,34
Glukonska kiselina (g/L)	0	1,2	0	2,1
Amonijak (mg/L)	49	7	165	25
pH	3,4	3,5	3,3	3,6

Tijekom razvoja infekcije kao produkt metabolizma obično nastaju različiti hidrolitički i oksidativni enzimi koji dovode do transformacije komponenti grožđanog soka (El-Gendi i sur., 2021). Kao glavna promjena koja nastaje infekcijom je gubitak vode i porast koncentracije kiselina i šećera (Tablica 1). Također može doći i do udvostručenja njihove koncentracije u odnosu na početnu (Rienth i sur., 2021).

Do promjene koncentracije sadržaja bobica najčešće dolazi zbog dehidracije i djelovanja pljesni *Botrytis cinerea*. Pljesan obično metabolizira organske kiseline kao izvor energije i tako dovodi do povećanja pH vrijednosti kao i porasta sladeg i mekšeg okusa vina (Rienth i sur., 2021). Usljed razgradnje pektinskih komponenti stanične stijenke u inficiranom grožđu dolazi do povećanja koncentracije galakturonske kiseline. Rastom micelija pod kutikulom dolazi do asimilacije šećera glukoze iz bobice (André i sur., 2021). Kako se glukoza troši u bobici dolazi do oslobađanja i nakupljanja glicerola i drugih šećernih alkohola poput manitolu, sorbitolu i inozitola. Prisustvo glicerola u botritiziranim vinima ima pozitivan učinak na kakvoću vina u vidu

povećanja njegove punoće i harmoničnosti okusa. Za izgradnju svog micelija pljesan obično koristi vinsku kiselinu. Pored nje vrši sintezu octene i limunske kiseline tako da je koncentracija kiselina botritiziranog mošta približno jednaka onoj u zdravom grožđu kako bi se uspostavila ravnoteža s visokim koncentracijama šećera prezrelih botritiziranih bobica (Rienth i sur., 2021).

Utjecaj plemenite pljesni na aromatske komponente vina

Smatra se da je aroma vina izuzetno kompleksno svojstvo. Nastaje sinergijom različitih ke-mijskih spojeva prisutnih u vinu te osjetom mirisa i okusa. Najpoznatiji aromatski spojevi su različiti alkoholi, aldehidi, esteri, ketoni, terpeni i ugljikovodici (Lakičević i sur., 2022). Mogu potjecati iz grožđa ili nastaju procesom vinifikacije, metabolizmom mikroorganizama te starenjem vina u hrastovim bačvama (Lutskova i Martirosyan, 2021). Obično botritizirana vina karakteriziraju složene organske aromatske komponente koje se sintetiziraju razvojem plemenite pljesni na kožici bobice s koje se potom prenose u mošt.

Zastupljenost aromatskih spojeva u moštu varira i ovisi o postotku zastupljenosti botritiziranih bobica. Više estera, masnih kiselina i voćnih acetata kao što su izoamil-acetat i fenetyl-acetat više je prisutno u vinu potpuno zdravih bobica, botritiziranom moštu u odnosu na mošt (Thakur i sur., 2018).

Sotolon je lakton iz skupine estera zaslužan za karakteristične vinske arome. Kad je prisutan u manjim količinama stvara takozvanu *roti* aromu koja je karakteristična za botritizirana vina, dok u kombinaciji s drugim aromatskim spojevima stvara medoliki okus (Negri i sur., 2017).

Pored sotolona, poznati su laktoni koji se sintetiziraju kao rezultat infekcije grožđa plemenitom pljesni. Do zanimljivog otkrića došli su Genovese i sur. (2007) analizom botritiziranih vina kojim su utvrdili da laktoni kao što su γ -nonalakton, γ -dekalakton, i δ -dekalakton imaju znatan utjecaj na aromu. Sarrazin i sur. (2007) su u svom istraživanju identificirali navedene laktone kao uzročnike izrazito voćnih aroma marelice i breskve u poznatim Sauternes predikatnim vinima.

Tablica 2. Komponente arume karakteristične za botritizirana vina (Magyar, I. i Soós, J. 2016.)
Table 2. Characteristics of botrytized wines aroma components (Magyar, I. and Soós, J. 2016)

	Komponenta	Senzorno svojstvo arume-miris ili okus
Aldehidi	Benzaldehid	Gorki badem
	Fenilacetaldehid	Med
	Furfural	Badem
	Metional	Med
Alkoholi	2-feniletanol	Ruža, cvjetni
	3-merkaptoheksanol	Grejp
	Benzil alcohol	Trešnja, orašasto voće
	1-octen-3-ol	Pljesan
	Metionol	Krumpir, soja
Esteri	Etilheksanoat	Ananas, zelena jabuka, banana
	2-fenilacetat	Voćni, cvjetni, med
	Feniletilacetat	Ruža

	Komponenta	Senzorno svojstvo aroma-miris ili okus
Laktoni	γ-nonalakton	Breskva, marelica
	γ-dekalakton	Breskva, marelica
	δ-dekalakton	Kokos
	Sotolon	Karamela, curry, orašasto voće
	2-non-en-4-olid	Kandirana naranča, menta
	Whisky lakton	Kokos
	2-furanon	Košturnjavo voće
Tioli	Merkaptoheksanol	
	4-merkapto-4-metilpentan-2-on	Citrusi, grejp, marakuja
	4-merkapto-4metilpentan-2-ol	
	3-merkaptopentanol	Citrusi
Terpeni	Nerol, geraniol i linalool	Cvijet naranče
	α-terpineol i 4-terpineol	Cvjetni, poput ljiljana
Furaneol	β-damascenon	Voćni, dunja, jabuka
	Furaneol	Karamela
	Norfuraneol	Karamela
	Homofuraneol	Karamela, šećerna vuna

Miller i sur. (2023) otkrili su da se γ-nonalakton i γ-dekalakton prisutni u botritiziranim vinima Australije odgovorni za specifične aromе kokosa. U Sauternes vinima aroma kokosa obično nastaje dozrijevanjem predikatnih vina u drvenim bačvama pri čemu nastaje γ-3-metiloktan lakton, poznatiji kao whisky lakton (Sarrazin i sur., 2007). U mladim Aszú vinima iz regije Tokaj obično se javlja 2-furanon, derivat laktona dajući vinu note košturnjavog voća (Miklósy i sur., 2004). U nešto manjoj mjeri zastupljen je 2-non-en-4-olid koji stvara voćne aromе i osyežavajući miris po menti, dok u kombinaciji s whisky laktonom, eugenolom i γ-nonalaktonom stvara miris kandirane ušećerene naranče. Sve navedeno potvrđuje da značaj laktona nije individualan nego je od izuzetne važnosti njihovo sinergijsko djelovanje koje uvelike pridonosi kakvoći vina (Stamatopoulos i sur., 2016).

Sumporni alkoholi tioli imaju pozitivno djelovanje na aromatski profil botritiziranih vina (Pruspva i sur., 2022). Jedan od najvažniji je 3-merkaptotetraheksanol koji je zaslužan za aromе citrusa, grejpa i marakuje botritiziranih vina (Sarrazin i sur., 2007; Blanco-Ulate i sur., 2015). Za citrusne aromе botritiziranih vina zaslužni su također i 4-merkapto-4-metilpentan-2-on, 4-merkapto-4-metilpentan-2-ol, 3-merkaptopentanol i 3-merkaptotetraheptanol (Sarrazin i sur., 2007.).

Tijekom infekcije bobica plemenitom pljesni kao dio obrambenog mehanizma biljke na prisutnost patogena sintetizira se benzil alkohol. Radi se aromatskom višem alkoholu koji nije prisutan u nezaraženom grožđu nego isključivo u inficiranom čime smanjuje stupanj zaraze patogenom (Negr i sur., 2017). *Botrytis cinerea* posjeduje enzim benzil-alkohol oksidazu kojom pretvara benzil alkohol u benzaldehid koji je karakterističan za botritizirana vina pojačavajući im aromatski profil dajući notu gorkog badema (Negr i sur., 2017).

Zaključak

Pljesni kao patogene mikroskopske gljive najčešći su uzročnici mikoza i mikotoksikoza u vino-gradima. Njihovo prisustvo na grožđu odražava se na ukupnu proizvodnju grožđa i vina te njegova fizikalna, kemijska i senzorička svojstva. Najčešći uzročnici mikoza vinove loze su siva pljesan,

pepelnica i plamenjača vinove loze čiji su uzročnici *Botrytis cinerea*, *Uncinula necator* i *Plasmopara viticola*. Najčešće dovode do gubitaka ukupnog prinosa i značajne degradacije brojnih aspekata kvalitete proizvedenog vina. Izlučivanjem mikotoksina u mošt dolazi do smanjenja ili gubitaka proizvodnje uslijed kontaminacije vina potencijalno opasnim spojevima. Pojava pljesni *Aspergillus* spp. i *Penicillium* spp. na grožđu karakterizira sinteza okratoksina A (OTA) koji predstavlja jedan od najopasnijih kontaminanata namirnica namijenjenih za ljudsku konzumaciju. Suprotno tome pljesan *Botrytis cinerea* može imati i pozitivan učinak u proizvodnji vina kada se pojavljuje u obliku plemenite pljesni ovisno o klimatskim uvjetima prilikom uzgoja vinove loze.

Napomena

Rezultati prezentirani u ovom radu nastali su kao rezultat završnog rada Marije Rajković koji je izrađen na Zavodu za mikrobiologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod naslovom "Značaj i uloga pljesni u proizvodnji vina".

Literatura

- Fugelsang, K. C., Edwards, C. G. (2007).** *Wine microbiology: Practical Applications and Procedures*, 2. izd., New York, Springer
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., and Moio, L. (2007).** Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine, *Food Chemistry*, 103: 1228–1236
- Gil-Serna, J., Vázquez, C., González-Jaén, M. T., Patiño, B. (2018).** Wine contamination with ochratoxins: a review, *Beverages*, 4: 6. doi:10.3390/beverages4010006
- Gutiérrez-Escobar, R., Aliaño-González, M.J., Cantos-Villar, E. (2021).** Wine Polyphenol Content and Its Influence on Wine Quality and Properties: A Review. *Molecules*. 26(3):718. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules26030718>
- Ivančan, N. (2009.)** Zaštita vinove loze u vegetaciji, *Glasnik zaštite bilja*, 32 (3): 43-52.
- Jackson, R.S. (2008).** *Wine Science: Principles and Applications*. 3rd Edition, Academic Press, London, 776.
- Kalenič, S., Mlinarić-Missoni, E. (2013).** Uvod u mikrobiologiju. Klasifikacija gljiva. Građa, metabolizam i razmnožavanje gljiva u Medicinska mikrobiologija, 511-518, Medicinska naklada, Zagreb
- Kassemeyer, H. H., Berkelmann-Löhnertz, B. (2009).** *Fungi of grapes u Biology of Microorganisms on Grapes*, in *Must and in Wine*, Springer, New York
- Keller, N.P. (2019).** Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews*, 17: 167–180. doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Kochman, J., Jakubczyk, K., Janda, K. (2021).** Mycotoxins in red wine: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 129:108229. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108229>
- Lakićević, S.H., Karabegović, I.T., Cvetković, D.J., Lazić, M.L., Jančić, R., Popović-Djordjević, J.B. (2022).** Insight into the Aroma Profile and Sensory Characteristics of 'Prokupac' Red Wine Aromatised with Medicinal Herbs. *Horticulturae*, 8,277. doi: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040277>
- Liu, D., Chen, Q., Zhang, P., Chen, D., Howell, K.S. (2020).** The Fungal Microbiome Is an Important Component of Vineyard Ecosystems and Correlates with Regional Distinctiveness of Wine. *Applied and Environmental Science*, 5(4): 10.1128/msphere.00534-20. doi: <https://doi.org/10.1128/msphere.00534-20>
- Lutskova, V., Martirosyan, I. (2021).** Influence of harvest date and grape variety on sensory attributes and aroma compounds in experimental ice wines of Ukraine. *Fermentation*, 7(1): 7. doi: <https://doi.org/10.3390/fermentation7010007>
- Maceljski, M., Cvjetković, B., Ostožić, Z., Barić, B. (2006).** Štetočinje vinove loze, Zrinski d.d., Čakovec
- Magyar I., Soós J. (2016).** Botrytized wines – current perspectives. *International Journal of Wine Research*, 8:29-39. doi: <https://doi.org/10.2147/IJWR.S100653>
- Miklósy, É & Kalmár, Z. & Kerenyi, Z. (2004).** Identification of some characteristic aroma compounds in noble rotted grape berries and Aszú wines from Tokaj by GC-MS, *Acta Alimentaria*, 33 (3): 215-226. doi: 10.1556/AAlim.33.2004.3.2
- Mondani, L., Palumbo, R., Tsitsigiannis, D., Perdikis, D., Mazzoni, E., Battilani, P. (2020).** Pest Management and Ochra-

toxin A Contamination in Grapes: A Review. *Toxins (Basel)*. 7;12(5):303. doi: <https://doi.org/10.3390%2Ftoxins12050303>

Nawaf, A. (2023). Mycotoxin source and its exposure causing mycotoxicoses. *Bioinformation*. 30;19(4):348-357. doi: <https://doi.org/10.6026%2F97320630019348>

Negri, S., Lovato, A., Boscaini, F., Salvetti, E., Torriani, S., Commissio, M., Danzi, R., Ugliano M., Polverari, A., Tornielli, GB., Guzzo, F. (2017). The Induction of Noble Rot (*Botrytis cinerea*) Infection during Postharvest Withering Changes the Metabolome of Grapevine Berries (*Vitis vinifera L.*, cv. Garganega). *Frontiers in Plant Science*, 8:1002.

Oliveira C.M., Barros A.S., Silva Ferreira A. C., Silva A.M.S (2015). Influence of the temperature and oxygen exposure in red Port wine: a kinetic approach. *Food Research International*, 75:337-347

Orozco-Mosqueda, M.d.C., Kumar, A., Fadiji, A.E., Babalola, O.O., Puopolo, G., Santoyo, G. (2023). Agroecological Management of the Grey Mould Fungus *Botrytis cinerea* by Plant Growth-Promoting Bacteria. *Plants*, 12, 637. doi: <https://doi.org/10.3390/plants12030637>

Petrović, El., Ćosić, J., Vrandečić, K., Godena, S. (2023). Occurrence of mycotoxins in food and beverages. *Journal of Central European Agriculture*, 24(1): 137-150. doi: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/24.1.3704>

Pleadin, J., Zadravec, M., Lešić, T., Frece, J., Vasilj, V., Markov, K. (2020). Klimatske promjene – potencijalna prijetnja još znatnijoj pojavnosti mikotoksina, Veterinarska stanica, 51 (6): 659-671.

Radveikienė, I., Vidžiūnaitė, R., Meškienė, R., Meškys, R., Časaitė, V. (2021). Characterization of a Yellow Laccase from *Botrytis cinerea* 241. *Journal of Fungi (Basel)*. 7(2):143. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fjof7020143>

Rienth, M., Vigneron, N., Walker, RP., Castellarin, SD., Sweetman, C., Burbidge, CA., Bonghi, C., Famiani, F., Darriet, P. (2021). Modifications of Grapevine Berry Composition Induced by Main Viral and Fungal Pathogens in a Climate Change Scenario. *Frontiers in Plant Science*, 12:717223. doi: <https://doi.org/10.3389%2Ffps.2021.717223>

Sarrasin, E., Dubourdieu, D., Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization, *Food Chemistry*, 103: 536-545.

Septon-Clark, PCS., Voelz, K. (2018). Spore Germination of Pathogenic Filamentous Fungi. *Advances in Applied Microbiology*, 102:117-157.

Sipiczki M. (2019). Yeasts in Botrytized Wine Making, u Romano P., Ciani M., Fleet G. (eds) *Yeasts in the Production of Wine*, Springer, New York, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4_7

Stamatopoulos, P., Brohan, E., Prevost, C., Siebert, T., Herderich, M., Darriet, P. (2016). The Influence of Chirality of Lactones on the Perception of Some Typical Fruity Notes through Perceptual Interaction Phenomena in Bordeaux Dessert Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(43). doi: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03117>

Swiegers, J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour, *The Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11: 139-173.

Tan S.Y., Tatsumura Y. (2015). Alexander Fleming (1881-1955): Discoverer of penicillin, *Singapore Medical Journal*, 56 (7).

Thakur, A., Thakur, N. S., Joshi, V. K., Sharma, S. K. (2018). Botrytized Wines: A Review, *International Journal od Food and Fermentation Technology*, 8 (1): 1-13, New Delhi Publishers, doi: 10.30954/2277-9396.01.2018.1

Toplovec-Pintarić, S. (2000). Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botriticide u vinogradima i suodnos rezistentnih patotipova, doktorska disertacija, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Visconti, A., Perrone, G., Cozzi, G., Solfrizzo, M. (2008). Managing ochratoxin A risk in the grape-wine food chain, *Food Additives and Contaminants*, 25 (2): 193-202.

Walker, RP., Bonghi, C., Varotto, S., Battistelli, A., Burbidge, CA., Castellarin, SD., Chen, ZH., Darriet, P., Moscatello, S., Rienth, M., Sweetman, C., Famiani, F. (2021). Sucrose Metabolism and Transport in Grapevines, with Emphasis on Berries and Leaves, and Insights Gained from a Cross-Species Comparison. *Internacional Journal of Molecular Sciences*. 22(15):7794. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fijms22157794>

Welke, J. E., (2019). Fungal and mycotoxin problems in grape juice and wine industries, *Current Opinion in Food Science*, 29: 7-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.06.009>

Zagrodzki, P., Jancik, M., Piątek, V., Fotta, M., Dobrowolska-Iwanek, J. (2023). Changes in selected chemical and sensory parameters during aging of red wines produced in Poland. *European Food Research and Technology*, 249:1915–1924.

Zhi-Dong J. and Zhiqiang, A.N. (2000). Bioactive Fungal Natural Products Through Classic and Biocombinatorial Approaches. *Studies in Natural Products Chemistry*, 22(C): 245-272. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01002>

Miller, G.C., Barker, D., Pilkington, L.I. (2023). Synthesis of a novel isotopically labelled standard for quantification of γ -nonalactone in New Zealand Pinot noir via SIDA-SPE-GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 415, 5035–5047
doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-023-04789-2>

Prusova, B., Humaj, J., Sochor, J., Baron, M. (2022). Formation, Losses, Preservation and Recovery of Aroma Compounds in the Winemaking Process. *Fermentation*, 8, 93. doi: <https://doi.org/10.3390/fermentation8030093>

Prispjelo/Received: 8.2.2024.

Prihvaćeno/Accepted: 5.4.2024.

Review paper

Significance and role of moulds in wine production

Abstract

Wine production often deals with problems caused by different types of mould. Many of them are harmful because they cause various diseases or secrete toxic and potentially hazardous compounds that reduce the overall yield and quality of wine. The most important among them are the moulds *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* and *Botrytis cinerea*. However, *Botrytis cinerea* can also contribute to a significant improvement in the organoleptic properties of wine and enable the production of prized predicate wines. In this paper, based on existing literature sources and knowledge, the positive and negative effects of the presence of mould on the final characteristics of wine are described.

Keywords: moulds, mycoses, mycotoxicoses, botrytized wines