

Mendelova univerzita v Brně

Záhradnická fakulta v Lednici

Organoleptické defekty vína způsobené plesňami

Bakalárska práca

Vedúci bakalárskej práce:

Ing. Michal Kumšta

Vypracoval:

Jakub Peško

Lednice 2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Jakub Peško**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Vinohradnictví a vinařství
Název tématu: **Organoleptické defekty vína způsobené plísněmi**
Rozsah práce: 30 stran, grafy, tabulky, schémata

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu k zadanému tématu.
2. Porovnejte jednotlivé druhy plísní z hlediska produkce metabolitů ovlivňujících organoleptické vlastnosti vína, jak se tyto látky případně mění v průběhu vinifikace a zrání vína.
3. Uveďte metody stanovení těchto látek a jejich koncentrace ve víně.

Seznam odborné literatury:

1. BRANCO, J M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.
3. POLO, C M. – MORENO-ARRIBAS, V M. *Wine chemistry and biochemistry*. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.

Datum zadání bakalářské práce: prosinec 2013

Termín odevzdání bakalářské práce: květen 2014

L. S.



Jakub Peško

Autor práce



Ing. Michal Kumšta

Vedoucí práce



Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vedoucí ústavu



doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.

Děkan ZF MENDELU

Čestné prehlásenie

Prehlasujem, že som túto prácu Organoleptické defekty vína spôsobené plesňami vypracoval samostatne a všetky použité pramene a informácie sú uvedené v zozname použitej literatúry. Súhlasím, aby moja práca bola zverejnená v súlade s § zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v znení neskorších predpisov a v súlade s platnou smernicou o zverejňovaní vysokoškolských záverečných prác.

Som si vedomý, že sa na moju prácu vzťahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavretie licenčnej zmluvy a užitie tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst..1 Autorského zákona.

Ďalej sa zaväzujem, že pred spísaním licenčnej zmluvy o využití diela inou osobou (subjektom) si vyžiadam písomné stanovisko univerzity o tom, že predmetná licenčná zmluva nie je v rozpore s oprávnenými záujmami univerzity a zaväzujem sa uhradiť prípadný príspevok na úhradu nákladov spojených so vznikom diela, a to až do ich skutočnej výšky.

V Lednici dňa:

.....

Podpis

Pod'akovanie

Touto cestou by som sa chcel hlavne poďakovať môjmu vedúcemu bakalárskej práce Ing. Michalovi Kumštovi za ústretovosť, čas a cenné rady, ktoré mi pomohli pri vypracovaní mojej bakalárskej práce.

OBSAH

1. Úvod	11
2. Cieľ práce	12
3. Literárny prehľad.....	13
3.1 Definícia plesne.....	13
3.2 Plesne vo vinohradníctve	14
3.2.1 Pleseň viniča.....	14
3.2.2 Múčnatka viniča	15
3.2.3 Šedá hniloba	16
3.2.4 Biela hniloba.....	18
3.2.5 Ružová hniloba.....	18
3.2.6 Zelená Hniloba	19
3.2.7 Červená spála viniča.....	20
3.2.8 Čierna škvrnitosť viniča	20
3.2.9 Čierna hniloba viniča.....	21
3.2.10 Chradnutie a odumieranie viniča- ESCA	22
3.2.11 Eutypové odumieranie viniča	22
3.3 Plesne vo vinárstve.....	23
3.3.1 Deuteromycetes	24
3.3.1.1 Botrytis cinerea.....	24
3.3.1.2 Cladosporium cellare	27
3.3.1.3 Cladosporium herbarum	28
3.3.2 Phycomycetes	28
3.3.2.1 Rod Mucor	29
3.3.2.2 Rod Rhizopus.....	29
3.3.3 Ascomycetes.....	29
3.3.3.1 Aspergillus niger.....	29

3.3.3.2	Aspergillus orizae	30
3.3.3.3	Aspergillus ruber.....	30
3.3.3.4	Aspergillus glaucus.....	30
3.3.3.5	Penicillium.....	30
3.3.3.6	Penicillium glaucum	31
3.3.3.7	Penicillium purpurogenum	31
3.3.3.8	Penicillium expansum.....	31
3.4	Sekundárne metabolity plesní	31
3.4.1	Mykotoxíny	31
3.4.1.1	Ochratoxín	34
3.4.1.2	Patulín	35
3.4.2	Geosmin.....	35
3.5	Kontaminácia plesňami z nádob a hadíc.....	36
3.5.1	Drevené nádoby.....	37
3.5.1.1	Ošetrovanie sudov.....	37
3.5.1.2	Sírenie sudov.....	38
3.5.1.3	Udržovanie vonkajšieho povrchu sudov.....	38
3.5.1.4	Úprava plesnivých sudov.....	39
3.5.2	Ostatné nádoby	39
3.5.3	Hadice a potrubia.....	39
3.6	Odstránenie pachuti po plesni a hnilobe	40
3.7	Metódy stanovenia	41
3.7.1	Stanovenie plynovou chromatografiou.....	42
3.7.2	Stanovenie imunochemické.....	43
4.	Záver.....	44
5.	Zhrnutie a kľúčové slová	45
6.	Summary and keywords	45

7. Zoznam použitej literatúry	46
-------------------------------------	----

Zoznam obrázkov

Obr. 1 Bobule napadnuté plesňou viniča [7]	15
Obr. 2 Bobule napadnuté múčnatkou viniča [8]	16
Obr. 3 Bobule negatívne napadnuté šedou hnilobou [9]	17
Obr. 4 Bobule napadnuté ušľachtitou šedou hnilobou [9]	17
Obr. 5 Bobule napadnuté bielou hnilobou [13]	18
Obr. 6 Bobule druhotne napadnuté ružovou hnilobou na plesni šedej [14]	19
Obr. 7 Bobule napadnuté zelenou hnilobou [15]	19
Obr. 8 Červená spála viniča [17]	20
Obr. 9 Plodnice (piknódie) na mladej kôre [20]	21
Obr. 10 Bobule napadnuté čiernou hnilobou [21]	21
Obr. 12 Prierez kmeňa napadnutého <i>Eutypov lata</i> [29]	23
Obr. 13 <i>Cladosporium cellare</i> [39]	28
Obr. 14 Zjednodušená schéma plynového chromatografu [58]	42

Zoznam tabuliek

Tab. 1 Najvyššie koncentrácie polyolov vo víne [33]	25
Tab. 2 Obsah sacharidov a polyalkoholov pôsobením kultúry <i>Botrytis cinerea</i> [34]	25
Tab. 3 Rozdelenie mykotoxíny podľa chemickej štruktúry[41]	32
Tab. 4 Rozdelenie mykotoxínov podľa ich biosyntézy [41]	33
Tab. 5 Maximálne povolené hodnoty ochratoxínu A [45].....	35
Tab. 6 Dávky síry pri šírení prázdnych sudov [52]	38
Tab. 7 Použitie aktívneho uhlia [56].....	41

Zoznam schém

Schéma 1 Vzorec arabitolu [35]	26
Schéma 2 Vzorec manitolu [35]	26
Schéma 3 Vzorec ochratoxínu A [45].....	34
Schéma 4 Vzorec patulínu [47]	35
Schéma 5 Vzorec geosminu [49]	36

1. Úvod

Hrozno ako produkt na výrobu vína nemá vo vinici vždy optimálny zdravotný stav a býva napadane rôznymi chorobami, škodcami alebo nepriaznivým počasím, ktoré v podobe krupobitia alebo ako faktor prispievajúci k rozvoju chorôb znižuje kvalitu hrozna čo v konečnom dôsledku ovplyvní výslednú kvalitu vína.

Do muštu alebo vína sa pleseň môže dostať priamo z hrozna alebo sa doňho dostáva až v pivnici prostredníctvom kontaminovaného náradia, nádob alebo pivničného priestoru.

V pivničnom hospodárstve sa mušt alebo víno školí a uskladňuje v rôznych typoch nádob vyrobených z rôznych materiálov kde dochádza ku kontaktu vína so stenami nádrže či už nerezovej nádrže alebo dreveného sudu. Tieto nádoby hlavne drevené bývajú v niektorých prípadoch miestom kontaminácie muštu alebo vína plesňami.

Dnešné laboratórne podmienky umožňujú pomocou rôznych metód stanoviť látky obsiahnuté vo víne. Pre stanovenie množstva mykotoxínov sa využíva metóda imunochemická a stanovenie geosminu sa prevádza pomocou plynovej chromatografie.

Organoleptickými vlastnosťami vína rozumieme aspekty potravín alebo iných látok, ktoré dokážeme rozoznať s našimi zmyslami je to chuť, zrak, čuch a hmat. Zrakom môžeme určiť čírosť, farbu ale aj viskozitu daného vína. Ďalším zmyslom je čuch, ktorým vieme rozpoznať veľké množstvo aromatických látok či už pozitívnych alebo negatívnych. Rozpoznanie rôznych prchavých látok, ktoré sme schopné cítiť vo víne nie je vždy ľahké a vyžaduje si to určitú prax a určitú genetickú predispozíciu jedinca. Chuť vnímame jazykom presnejšie chuťovými pohárikmi rozmiestnenými na povrchu jazyka. Hmat pri hodnotení organoleptických vlastností vína nie je nejako využívaný, hodnotiteľ hmatom môže zistiť približnú teplotu vína v pohári.

Defektom vína alebo vadou vína sa rozumie že sa do vína dostanú látky vínu cudzie spôsobujúce rôzne chemické a fyzikálne reakcie, ktoré môžu viesť k zhoršeniu kvality vína prípadne k úplnému znehodnoteniu. Určiť jednoznačnú príčinu vzniku vady vína nie je vždy jednoduché a možností je veľmi veľa.

2. Cieľ práce

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo preštudovať literatúru danej problematiky organoleptických defektov vína spôsobených plesňami. Porovnať jednotlivé druhy plesní a ich dopad na kvalitu vína. Uviesť metódy stanovenia týchto látok a ich prípadné koncentrácie vo víne.

3. Literárny prehľad

3.1 Definícia plesne

Existujú tisíce druhov plesní, každý má svoje nároky na spôsob života. Všetky však vyžadujú na svoje prežitie vlhkosť, niektoré žijú vo vodných prostredí. Optimálna teplota pre rozvoj plesní je medzi 4,4°C – 37,7°C. Niektoré sú schopné rozvoja v rozmedzí teplôt -10°C až +60°C. Relatívna vzdušná vlhkosť by sa mala pohybovať nad hranicou 60%.

Plesne sú mikroskopické vláknité huby tvorené s vláken podobajúce sa nitiam (hýfa), ktoré sa zložito vetví v podhubie (mycélium). Z podhubia vyrastajú rozmnožovacie orgány, ktoré uvoľňujú vodoodpudivé výtrusy (spory) kontaminujúce povrchy, predmety a potraviny. Zo spóry vyklíči vlákno, ktoré sa v priaznivých podmienkach začne rozrastať v hýfu. Môžu sa rozširovať aj rozrastaním hýf a ich úločkami. Vyskytujú sa v najrôznejšom prostredí v podobe nárastov mycélia. Nárasty môžu mať rôzne farby a to bielu, žltú, krémovú, zelenú, modrú, šedú a čiernu. Farba mycélií je spôsobená pigmentami, ktoré tiež zafarbiajú aj výtrusy (spory). Spóry plesní môžu byť nepohlavne (mitóza) alebo pohlavné (meióza). Veľa druhov plesní môžu byť pohlavné aj nepohlavné. Niektoré formy plesní produkujú malé, hydrofóbne spory, ktoré sú pohyblivé vo vetre a dokážu sa dlhšiu dobu udržať vo vzduchu. Iné spóry plesní majú slizké puzdrá a sú dobre pohyblivé vo vodnom prostredí. Spóry sa môžu prichytiť napríklad na steny nádob alebo pivnice, niektoré sú schopné prežiť extrémne teploty a tlak. Sú schopné si upraviť aj pH prostredia substrátu, v ktorom žijú.

Plesne nezískavajú energiu prostredníctvom fotosyntézy ale z organickej hmoty na ktorej žijú pomocou heterotrofie. Plesne vylučujú hydrolytické enzýmy vďaka, ktorým rozkladajú zložité biopolyméry ako je škrob, celulóza a lignin na jednoduchšie látky. Spolu s lytickými enzýmami inhibujú rast konkurenčných mikroorganizmov.

[1-3]

Heterotrofia je spôsob výživy kde organizmus rozkladá organické látky aby získal uhlík na tvorbu svojich organických látok.

Špeciálne prípady heterotrofie sú: -parazitizmus

-saprofytizmus

Parazitizmus alebo inak nazývané cudzopasnictvo spočíva vo vzťahu jedného organizmu (parazita), ktorý odoberá živiny (organické a anorganické látky) pre svoje

prežitie z druhého organizmu tzv. hostiteľa. Do tela svojho hostiteľa parazity vylučujú jedovaté látky toxíny. Plesne do svojho hostiteľa vylučujú toxín s názvom mykotoxín.

Parazitizmus podľa miesta parazitovania rozlišujeme na:

-ektoparazity ,ktoré žijú mimo hostiteľa alebo na jeho povrchu

-endoparazity , ktoré žijú vo vnútri organizmu

Saprofytizmus je taká výživa kedy sa napr. pleseň živý odumretými organizmami poprípade organickými zvyškami ,ktoré saprofyt rozkladá a mineralizuje na jednoduchšie anorganické látky.[4-6]

Okrem peľu a roztočov aj plesne patria medzi významné alergény, niektoré produkujú jedy priamo do potravín, niektoré spôsobujú ochorenie kože, iné zase vyvolávajú životu nebezpečné ochorenia u slabších jedincov. Človeka najviac ohrozujú mykotoxikózy čo sú vlastne onemocnenia spôsobené plesňovými jedmi nazývanými mykotoxíny, ktoré môžu niektoré plesne vylučovať do napadnutých potravín. Približne 50 mykotoxínov má priamu súvislosť s ochorením ľudí a zvierat.[3]

3.2 Plesne vo vinohradníctve

Vinič hroznorodý je vo vinohradníctve často napádaný hubovými chorobami, ktoré ovplyvňujú kvalitu bobúľ, organoleptické vlastnosti vína, vitalitu a životnosť krov. Okrem toho že poškodzujú bobule, poškodzujú aj listovú plochu čo má za následok úbytok výkonnosti asimilácie. Takto napadnuté kvetenstvá, bobule prípadne celé strapce znižujú výnos a hlavne kvalitu.

3.2.1 Plesne viniča

V našich prírodných podmienkach je to najčastejšie vyskytujúca hubová choroba. Pôvodcom tejto choroby je huba *Plasmopara viticola* patriaca medzi *Oomycetes* a podľa súčasnej taxonómie medzi *Peronosporomycetes*.

Plasmopara viticola je biotrofný patogén, ktorý parazituje len na druhu rodu *Vitis*. Podhubie sa rozrastá v medzibunkových priestoroch pletív vo forme hýf, ktoré vytvárajú

gul'ovité haustóriá. Takto prenikajú cez bunečné steny a pre svoju výživu využívajú bunky.

Huba napáda všetky zelené časti viniča. Na listoch vytvára olejové škvrny. Biele odrody majú tieto škvrny sfarbené do žltá, u farbiarok môžu byť načervenalé. Pri silnom napadnutí sú porýté celé listy a môže doísť až k defoliácií. Tým pádom dochádza k zníženej asimilácií cukru do bobuliek. Priamo bývajú napadnuté aj kvetenstvá a bobule hlavne v dobre hráškovatenia. Najskôr sa na bobuliach vytvorí biely povlak, kvety usychajú. Bobule sa v dobre hráškovatenia sfarbujú do modra až fialova, scvrkávajú sa a usychajú. [7]



Obr. 1 Bobule napadnuté plesňou viniča [7]

3.2.2 Múčnatka viniča

Pôvodcom múčnatky je huba *Erysiphé necator* Schwein, patriaca medzi *Ascomycetes* a do *Erysiphales*.

Erysiphé necator je biotrofný parazit, ktorý parazituje iba na druhu *Vitis*. Huba napáda všetky zelené časti viniča. Na napadnutie múčnatkov sú najcitlivejšie kvetenstvá a malé bobule. Napadnutá bobuľa býva pokrytá bielim povlakom. Bobule napadnuté v dobre hráškovatenia praskajú a dochádza k výron semien, ktoré sú potom druhotne napadané hnilobami, baktériami alebo kvasinkami. Vytvorený povlak na povrchu bobúľ je vlastne husté biele až šede mycélium. Živiny odoberá pomocou haustórií a preto ju zaradená medzi ektoparazity . [7]



Obr. 2 Bobule napadnuté múčnatkou viniča [8]

3.2.3 Šedá hniloba

Pôvodcom šedej hniloby je huba *Botrytis cinerea*. Neparazituje len na viniči hroznorodom ale má veľmi široký okruh hostiteľov. Huba žije hlavne saprofitycky.

Bobule napadnuté *Botrytis cinerea* produkujú vysoké množstvo enzýmu lakázy, ktorý spôsobuje hnednutie muštu oxidáciou antokyaninov a flavanoidov. Táto oxidácia spôsobuje hnednutie bielych vín a u červených vín zase zapríčiňuje nízku farbu. Na dozrievajúcich bobuliach vznikajú hnilobné škvrny, pokožka začína praskať a odlupovať sa. Za suchého počasia napadnuté bobule mumifikujú.

Huba môže napádať aj letorasty. Napadnuté miesta sa sfarbujú do zelenohneda, letorasty vädnú a odlamujú sa. Napadnuté mladé lístky bývajú pokryté šedým povlakom konidiofór a konídiami. Kvetenstvo napadnuté *Botrytis cinerea* hnedne a usychá. Pri napadnutí strapiny šedou hnilobou postupne hnedne, vädne a bobule môžu opadávať. Toto hubové ochorenie spôsobuje významne škody nie len vo rodiacich viniciach ale aj pri množiteľskom materiáli a vo viničových škôlkach.



Obr. 3 Bobule negatívne napadnuté šedou hnilobou [9]

Botrytis cinerea sa môže vyskytovať aj v ušľachtilej forme pokiaľ je zrelé hrozno napadnuté pri cukornatosti aspoň 19°NM. V tomto prípade dochádza následkom poškodenia šupky k zrýchlenému vyparovaniu vody a tým zvýšeniu cukornatosti hrozna. Vína vyrábané z hrozna napadnutého ušľachtilou šedou hnilobou sú typické pre Tokajskú oblasť.[7, 10, 11]



Obr. 4 Bobule napadnuté ušľachtilou šedou hnilobou [9]

3.2.4 Biela hniloba

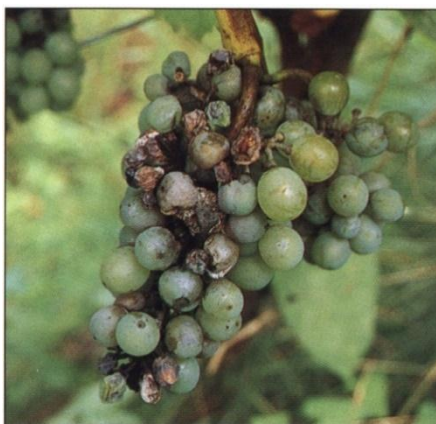
Biela hniloba (*Coniella Diplodiella*) je spôsobená hubou *Metashpaera Diplodiella*. Začína napadať bobule od počiatku mäknutia, biele odrody sfarbujú do mliečnych odtieňov až svetlo hnedá. Napadnuté bobule začínajú hniť a usychať. Bobule začínajú zapáchať po octe, ktorý spôsobuje činnosť octových baktérií a kvasiniek.[12] Ďaleko viacej však poškodzovanie na kmeňkoch starého dreva, ktoré praskajú, odlupuje sa kôra a v mieste praskliny vznikajú typické nádory.[7]



Obr. 5 Bobule napadnuté bielou hnilobou [13]

3.2.5 Ružová hniloba

Pôvodcom ružovej hniloby je huba *Trichothecium roseum*. Začína sa vyskytovať až ako druhotný parazit a väčšinou sa vyskytuje a bobuliach, ktoré sú napadnuté šedou hnilobou. Podhubie spolu s konídiami vytvárajú povlak naružovelej farby.



Obr. 6 Bobule druhotne napadnuté ružovou hnilobou na plesni šedej [14]

3.2.6 Zelená Hniloba

Zelená hniloba je spôsobená hubou *Penicillium expansum*. Pre rozvoj infekcie stačia malé trhlinky v kutikule a šupke alebo stačí aj iné mechanické poškodenie bobúľ.

Bobuľa sa sfarbuje do svetlohnedá až do kávových odtieňov a tvorí sa belavé mycélium. Mycélium sa postupne rozrastá a zafarbuje sa do zelena alebo zelenomodra. Napadnuté bobule majú horkú a kyslú chuť. Strapce treba preberať už vo vinici inak hrozí tvorba mykotoxínov.[7]



Obr. 7 Bobule napadnuté zelenou hnilobou [15]

3.2.7 Červená spála viniča

Červená spála viniča sa vyskytuje lokálne a býva často viazaná na určitú oblasť. Pôvodcom choroby je huba *Pseudopezicula tracheiphyla*. Toto ochorenie sa zníži takmer na minimum, s výnimkou niekoľkých málo napadnutých viníc. Účinne sa dá proti nej bojovať len preventívnym opatreniami. Vyskytuje sa hlavne na listoch a kvetenstve a dokážu spôsobiť výnosové a kvalitatívne straty u *Vitis vinifera* a to hlavne u odrôd Müller-Thurgau a Domina. *Pseudopezicula tracheiphyla* spôsobuje na listoch nažltlé škvrny u modrých odrôd červené škvrny. [7, 16]



Obr. 8 Červená spála viniča [17]

3.2.8 Čierna škvrnitosť viniča

Pôvodcom čiernej škvrnitosti viniča je huba *Phomopsis viticola*. Táto choroba zatiaľ nespôsobuje významne hospodárske škody. *Phomopsis viticola* je hospodársky významné ochorenie v mnohých oblastiach vinárskych sveta. [18] Napáda hlavne drevo a môže spôsobiť uhynutie celých krov alebo ich častí. [19] Čierna hniloba sa začína prejavovať tak že na kôre sa objavujú tmavohnedé až čierne piknidiá s priemerom 0,2-0,4 mm. Na listoch sa vytvárajú chlorotické škvrny, ktoré časom znekrotizujú. Listy bývajú zvlhnené a zvinujú sa. Silne napadnutý list opadáva. [7]



Obr. 9 Plodnice (piknódie) na mladej kôre [20]

3.2.9 Čierna hniloba viniča

Táto choroba je spôsobená hubou *Guinardia bidwellii*. Postihuje väčšinou teplejšie oblasti Európy. *Guinardia bidwellii* na napadnutých listoch vytvára šedé až hnedé nekrotické škvrny ohraničené tmavohnedým lemom. Na ešte zelených letorastoch môžeme vidieť nekrózy čiernej farby.

Bobule bývajú napadnuté skorej než listy. Na bobuli sa vytvárajú svetlošedé škvrny a šupka sa zvráštuje. Neskôr sa bobule sfarbujú do modrošeda a usychajú.[7]

Táto choroba spôsobuje zníženie výťažnosti a teda spôsobuje kvantitatívne straty na úrode



Obr. 10 Bobule napadnuté čiernou hnilobou [21]

3.2.10 Chradnutie a odumieranie viniča- ESCA

Za vznik ESCA môžu endofytické huby *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* a *Fomitiporia mediterranea*. U viniča hroznorodého prebieha v chronickej alebo akútnej forme.

Chronická forma sa vyskytuje na dreve, listoch a aj bobuliach. Príznaky na dreve sú najlepšie viditeľné pri reze kde sú viditeľné hnedé alebo čierne bodky alebo škvrny. Na listoch vznikajú chlorotické škvrny, napadnuté listy neskôr nekrotizujú a opadávajú. Na bobuliach je vidno malé, tmavé škvrny, ktoré môžu zapríčiniť až prasknutie pokožky a tým dôjde k následnému druhotnému napadnutiu napríklad octových baktérií. Príznaky na bobuliach sa vyskytujú nezávisle od napadnutia listov. Bobule na viniči napadnuté ESCA bývajú väčšinou malé a nedosahujú dobrý stupeň zrelosti. Pri zlom dozrievaní môže byť negatívne ovplyvnená kvalita vyrobeného vína.[22-24]

Akútna forma je označovaná termínom apoplexia. Vinič je až do júla bez príznakov. Zdravé listy sa pri akútnej forme sfarbujú do svetlošedej a šedozelenej a rýchlo vädnú. Bobule sa scvrkávajú a vädnú. Pri priereze kmeňa je viditeľná uschnutá časť dreva. Takto napadnutý ker odumiera do jedného vegetačného obdobia.

Huby spôsobujúce ESCA dokážu v rastline prežívať aj viacej rokov a vedia znovu spôsobiť infekciu.[7]



Obr. 11 Príznaky ESCA na dreve, listoch a bobuliach [25-27]

3.2.11 Eutypové odumieranie viniča

Pôvodcom ochorenia je huba *Eutypa lata*, Vstupným miestom pre infekciu sú hlavne rezné rany.

Príznaky sú už vidieť pri pučaní, letorasty slabo rastú a sú drobné. Na takto poškodených letorastoch kvetenstvá usychajú, sprchávajú a tvoria malé bobule. Listy sú malé, zvinujú sa. Objavujú sa na nich chlorotické škvrny a postupne nekrotizujú.

Po niekoľkých rokoch odumierajú ťažne a nakoniec aj celý ker.[7, 28]



Obr. 12 Prierez kmeňa napadnutého *Eutypov lata* [29]

3.3 Plesne vo vinárstve

Plesne vo víne a vinárskych prevádzkach sú bežnou súčasťou. Sú faktorom ovplyvňujúcim kvalitu vína vo väčšine prípadov však negatívne. Preto je dôležité dbať na hygienu vo vinárskych prevádzkach a snažiť sa spracovávať hrozno v čom najlepšom zdravotnom stave.

V literatúre sa uvádza že plesne prítomné na hrozne môžu produkovať rôzne metabolity, ktoré dokážu meniť podmienky ekológie a rastu kvasiniek počas alkoholového kvasenia. Produkcia metabolitov, ktoré spomaľujú rast kvasiniek počas alkoholovej fermentácie je známa u plesne *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, a *Botrytis cinerea*.

Najväčší výskyt plesní bol zaznamenaný na začiatku kvasenia po dobu troch dní.

[30]

Plesne sa systematicky zaraďujú do troch tried:

1. *Deuteromycetes*
2. *Phycomycetes*
3. *Ascomycetes*

Z vinárskeho hľadiska má najväčší význam trieda *Deuteromycetes* rod *Botrytis* a *Cladosporium*. Triedy *Phycomycetes*, čelad' *Mucoraceae* a triedy *Ascomycetes*, čelad' *Aspergillaceae*.

3.3.1 Deuteromycetes

Do triedy *Deuteromycetes* patrí *Botrytis cinerea*, *Cladosporium Cellare* a *Cladosporium herbarum*

3.3.1.1 Botrytis cinerea

Najdôležitejšou plesňou je teda najmä pleseň *Botrytis cinerea* Person, trieda *Ascomycetes*, podtrieda *Discomycetes*, druh *Sclerotinia fuckeliana* Fuck. Všeobecne sa však vo vinárstve nazýva *Botrytis cinerea*. [31]

Botrytis cinerea má dve podoby v ktorých sa vyskytuje a to v ušľachtilej forme alebo zhubná hniloba. Ušľachtilá forma sa prejaví vtedy ak je počas dozrievania hrozna suché a slnečné počasie. Z bobúľ hrozna v takomto prípade vznikajú cibéby, ktoré dotvárajú jedinečný charakter tokajských vín.

Mycélium plesne je zo začiatku biele až sivobiele, neskôr býva hnedé alebo sivočierne. Nosiče konídií bývajú stromčekovito rozkonárené a na koncoch sú jemné bradavičky s konídiami. Mycélium napáda šupku bobule a narušuje ju čo má za následok silnejšie odparovanie vody z dužiny.

Pri dozrievaní hrozna napadnutého ušľachtilou plesňou *Botrytis cinerea* nastávajú podstatné zmeny v chemickom zložení hrozna. Dôsledkom narušenia šupky dochádza k štiepeniu primárnych aromatických látok, pričom sa tvoria iné aromatické látky. Najväčšou zmenou v dôsledku narušenia šupky a odparovania vody je zvyšujúci sa obsah cukrov. Okrem zvyšovania cukrov sa zvyšuje aj obsah glycerolu.

Glycerol je po vode a etanole chemická zlúčenina s najvyššou extrakciou vo víne. Je to bezfarebná olejovitá kvapalina, ktorá má nasladlú chuť a je dobre rozpustná vo vode. Názov glycerolu je odvodený od jeho nasladlej chuti a viskozity. Vínu dodáva hladkosť a "telo". Je to najdôležitejší vedľajší produkt alkoholovej fermentácie kde je tvorený kvasinkami spolu s etanolom pri prekvášaní glukózy. Kvasinky sú glukofilné a preto najprv prekvášajú glukózu, preto glycerol vzniká v prvých častiach fermentácie. Kvasinkami býva tvorený pri fermentácií prvých 50g cukrov.

Minimálna koncentrácia glycerolu vo víne je $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Na porovnanie v akej koncentrácii je glycerol oproti iným polyolom vo víne je tu tab. 1. [32, 33]

Tab.1 Najvyššie koncentrácie polyolov vo víne [33]

	Vzorec	najvyššia koncentrácia ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)
Glycerol	$\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$	5000-20000
Butanendiol-2,3	$\text{CH}_3-\text{CHOH}-\text{CHOH}-\text{CH}_3$	330-1350
Erythritol	$\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_2-\text{CH}_2\text{OH}$	30-200
Arabitol	$\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_3-\text{CH}_2\text{OH}$	25-350
Manitol	$\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2\text{OH}$	90-750
Sorbitol	$\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2\text{OH}$	30-300
meso-inozitol	$(\text{CHOH})_6$	220-730

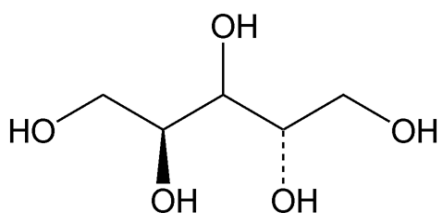
Pri pokusoch sa dokázalo že v vplyvom plesne *Botrytis cinerea* sa zvyšuje obsah alkoholických sacharidov a to hlavne obsah arabitolu a manitolu.

Tab.2 Obsah sacharidov a polyalkoholov pôsobením kultúry *Botrytis cinerea* [34]

Zložky	Pôvodný mušt	Mušt po 1 mesiaci	Mušt po 2 mesiacoch
Glukóza ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	70,2	67,6	49,6
Fruktóza ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	71,7	70,2	58,4
Glycerol ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	0,9	2	2,6
Erytrol ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	31	36	39
Arabitol ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	36	86	570
Manitol ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	82	250	536
Mezoinozitol ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	297	330	355
Trehalóza ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	69	64	131

Arabitol je penta – alkohol, ktorý vzniká z arabinózy činnosťou kvasiniek. Malé množstvo môže byť tiež vytvorené aj mliečnymi baktériami. Bežne sa môže vyskytovať v koncentráciách od 10 – 60 mg . l⁻¹ u bielych vín a u červených 30 – 110 mg . l⁻¹. V prípade keď je hrozno napadnuté ušľachtitou plesňou *Botrytis cinerea* môže dosahovať v ojedinelých prípadoch hodnoty až 2300 mg . l⁻¹. [33, 35]

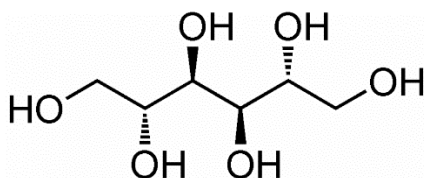
Schéma. 1 Vzorec arabitolu [35]



Manitol je hexa – alkohol formovaný z fruktózy v priebehu fermentácie. Môže byť tvorený aj mliečnymi baktériami pomocou, ktorých vzniká kyselina octová.[35]

Kyselina octová môže teda vzniknúť za pomoci mliečnych baktérií pri malolaktickej fermentácii z glukózy, ktorá sa nachádza vo víne v malom množstve aj po prekvasení kvasinkami. K rozmnoženiu potrebujú baktérie 0,4 - 0,8 g . l⁻¹. Kyselina octová môže víno úplne znehodnotiť pokiaľ nebola glukóza ešte kvasinkami prekvasená alebo začala malolaktická fermentácia príliš skoro. Pokiaľ sa vyskytuje vo víne vo väčších koncentráciách začne víno zapáchať po octe. Čím vyšší obsah kyseliny octovej tým je zápach intenzívnejší a štiplavejší. Zdravé víno obsahuje 0,2 – 0,5 g . l⁻¹ [36]

Schéma. 2 Vzorec manitolu [35]



Pleseň *Botrytis cinerea* obsahuje aj pektolytické enzýmy , ktoré sa dajú izolovať a použiť na prípravu enzýmových preparátov. Enzýmové pektolytické preparáty sa

používajú na čistenie muštu alebo na rozrušovanie pektínov pri lisovaní hrozna čo nám zaistí väčšiu výlisnosť u odrôd hrozna s pevnejšou dužinou. Pektolytický enzým dokonca zvyšuje aj extrakciu farbív a vonných látok.

Okrem pektolytických enzýmov *Botrytis cinerea* obsahuje aj oxidačné enzýmy ako napríklad polyfenoloxidázu, ktorá katalyzuje prenášanie kyslíka na polyfenoly, vyskytujúce sa v mušte. Účinkom polyfenoloxidázy nastáva aj hnednutie vína.[31]

Bobule napadnuté *Botrytis cinerea* produkujú aj vysoký obsah enzýmu lakázy, ktorý má za následok oxidáciu antokyanínov a flavanoidy a tým spôsobuje hnednutie muštu alebo vína. Biele vína tým získavajú hnedastý odtieň a červené vína majú zase nízku farbu.[7] To znamená že je hlavne nebezpečná u modrých odrôd, pretože rozrušuje farbivá a triesloviny.[37]

Vína vyrábane z hrozna napadnutého ušľachtilou formou *Botrytis cinerea* sú známe hlavne v oblasti Tokaj, ktorého väčšia časť sa nachádza v Maďarsku a menšia časť na východnom Slovensku. Tokajské víno je zlatistej farby, vo väčšine prípadov so zbytkovým cukrom a medovou arómou. Bývajú vyrábane tradičnou oxidatívnou metódou alebo modernou reduktívnou metódou. Môže sa vyrábať len z odrôd hrozna Furmint, Lipovina, Muškát žltý alebo Zeta.[38]

3.3.1.2 Cladosporium cellare

Je rozšírená hlavne v pivniciach a je považovaná za užitočnú pleseň. Tvorí tenké hýfy, konídie majú pretiahnutý tvar a bývajú väčšinou jednobunkové. Zo začiatku je bielej farby neskôr sa sfarbuje do rôznych odtieňov šedej až nakoniec získava čiernu farbu.



Obr. 13 *Cladosporium cellare* [39]

Cladosporium cellare je schopná viazať organické a anorganické výpary zo vzduchu. Z týchto výparov asimiluje etanol, aldehydy, prchavé estery a kyseliny. Na mušt a víno pôsobí úplne neutrálne a svojou schopnosťou asimilovať výpary vína čistí vzduch v pivnici a reguluje jeho relatívnu vlhkosť. Dá sa teda povedať že v pivnici táto pleseň pôsobí ako biologický filter.

Táto pleseň sa rozvíja len pri vysokej relatívnej vlhkosti 85% až 95%.

3.3.1.3 *Cladosporium herbarum*

Vyskytuje sa v pivniciach a poškodzuje etikety fliaš. [31]

3.3.2 *Phycomycetes*

Do triedy *Phycomycetes* patria plesne čeľade *Mucoraceae*, rodu *Mucor* a *Rhizopus*. Tieto plesne sú niekedy nazývané aj hlavičkovité. Tento názov majú pretože z ich mycélia vyrastajú spórangiospóry, ktoré majú okrúhle výtrusnice.[31]

3.3.2.1 Rod *Mucor*

Pleseň rodu *Mucor* tvorí nepravidelne rozvetvené spórangiospóry. Vyskytuje sa na pôde vinoradu počas celého roka. Vyskytujú sa tu druhy ako *M. spinosus*, *M. mucedo*, *M. pyriformis*, *M. racemosus* a *M. hiemalis*

Mucor racemosus Fresenius napáda bobule, ktoré padli na zem. Z týchto bobúľ sa pleseň dostáva aj do muštu, kde sa jej hýfy rozpadajú na okrúhle oídie. Majú schopnosť skvasovať sacharózu do 4 až 5 obj. % etanolu. Okrem skvasovania sacharózy sa tvoria aj ďalšie produkty ako sú acetaldehyd, organické kyseliny a glycerol.

Nachádzajú sa v skoro každom mušte, kde ich však potláčajú kvasinky.[31]

3.3.2.2 Rod *Rhizopus*

Z rodu *Rhizopus* sa v pôde a na bobuliach vyskytuje *Rhizopus nigricans* Pehrenberg.

Rhizopus nigricans Pehrenberg. Farba mycélia je zo začiatku biela neskôr tmavosivá. Na konci spórangiospór bývajú veľké čierne guľovité spórangia. V mušte sa nachádza do 1 až 2 obj. % Vo víne sa nevyskytuje. Patrí medzi aerofilné druh plesne.

3.3.3 Ascomycetes

Plesne triedy *Ascomycetes* tvoria delené hýfy a askoskóry. Pre vinárstvo má význam rod *Plectascineae*, čelad' *Aspergillaceae* s rodmi *Aspergillus* a *Penicillium*.

Na kroch viniča sa vyskytujú sa z rodu *Aspergillus* vyskytuje najmä *A. niger*, *A. orizae*, *A. ruber*, *A. Glaucus*.

3.3.3.1 *Aspergillus niger*

Na kroch viniča sa vyskytuje hlavne na hnijúcich bobuliach, ale aj v pôde a vo vzduchu. Mycélium je zo začiatku biele až žlté a neskôr prechádza do hnedej farby s viacerými čiernymi konídiami okrúhleho tvaru. *Aspergillus niger* produkuje enzýmy medzi, ktoré napríklad patrí pektínesteráza, proteínáza a podobne.

Využíva sa teda aj na výrobu pektolytických enzýmov a kyseliny citrónovej. [31]

Proteinázy vo vinárstve sú zatiaľ len vo výskume a fáze testovania. Vo vinárstve je od nich požadované aby reagovali s bielkovinami, ktoré sú zodpovedné za bielkovinové zákaly. Perspektívnym sa zatiaľ javí kombinácia pektinázy a proteinázy pre spracovanie pasturovaných muštov po inaktivácii oxidáz a mikroorganizmov a pre mladé biele vína. U červených vín pri aplikácii do rmutu a následnej termifikácii je značné zlepšenie farebnosti o 20 až 50 %. Dokonca sa zlepšujú senzorické vlastnosti vína a uľahčuje sa filtrácia.

3.3.3.2 *Aspergillus orizae*

Mycélium má spočiatku žltozelenú farbu a neskôr až žltohnedú. Táto plesň tiež produkuje rozličné enzýmy ako napríklad proteázu.

3.3.3.3 *Aspergillus ruber*

Aspergillus ruber vyskytuje hlavne na korkových zátkach. Hýfy tejto plesne produkujú červené farbivo.

3.3.3.4 *Aspergillus glaucus*

Aspergillus glaucus sa vyskytuje nielen v prírode ale aj pivnici. Mycélium má na začiatku žltozelenú farbu neskôr až sivohnedú.

Táto plesň napáda drevené sudy, hadice a dokonca aj korkové zátky. Víno, ktoré príde do styku s touto plesňou či už prostredníctvom sudov alebo zátok, môže dostať nepríjemnú pachúť po plesni, ktorá sa z vína veľmi ťažko odstraňuje.

3.3.3.5 *Penicillium*

Z rodu *penicillium* ma pre vinárstvo význam hlavne *P. glaucum*, *P. expansum* a *P. purpurogenum*.

3.3.3.6 *Penicillium glaucum*

Táto pleseň je prítomna skoro všade kde sa vyskytujú vodné zlúčeniny a hlavne sacharidy. Napáda hrozno, ktoré bolo mechanicky poškodené krúpami alebo hmyzom. Je pôvodcom zelenej hniloby hrozna. *Penicillium glaucum* spotrebovávajú časť sacharidov a kyselín ale aj časť dusíkatých látok. Produkuje nepríjemné prchavé látky, ktoré majú charakteristickú chuť po plesni.

Najčastejšie sa vyskytuje v miestach s nedodržiavanou hygienou. Objavuje sa hlavne v hadiciach, drevených sudoch, korkoch a podobne. Ak príde víno do styku s touto plesňou získava nepríjemnú plesňovú príchuť.

Je nebezpečná hlavne pre modré odrody, pretože rozrušuje triesloviny a farbivá.

3.3.3.7 *Penicillium purpurogenum*

Penicillium purpurogenum má podobné vlastnosti ako *Penicillium glaucum*, ale keď napadne triesloviny vytvára aj purpurovo sfarbené pigmenty.

3.3.3.8 *Penicillium expansum*

Mycélium je zo začiatku biele, neskôr prechádza z modrastej farby do zelenej. Napadá väčšinou dozrejšie bobule. Pleseň zanecháva zemitú a zatuchnutú vôňu, ktorá môže prejsť z hrozna až do muštu a vína.

Na svoj rozvoj má najradšej teploty medzi 15 až 27°C a relatívnu vzdušnú vlhkosť 90%. *P. expansum* dokáže okysliť hostiteľa prostredníctvom sekrécie organických kyselín čo znamená že kyslé prostredie posilňuje rozvoje tejto plesne.

Penicillium expansum produkuje mykotoxín s názvom patulín. [31]

3.4 Sekundárne metabolity plesní

3.4.1 Mykotoxíny

Mykotoxíny sú sekundárne toxické metabolity tvorené vláknitými mikromycétami a makro-mycétami. Sú to toxíny prírodného pôvodu vyskytujúce sa v potravinách.

Mykotoxíny sú látky vytvárané väčšinou saprofytickými plesňami a sú toxické pre človeka a ďalšie organizmy.

Štúdiom mykotoxínov sa zaoberajú nie len mykológovia ale aj biochemici, mikrobiológovia, toxikológovia a aj hygienici. Niektoré mykotoxíny sú pre ľudí karcinogénne.

Z hľadiska chemickej štruktúry je možné mykotoxíny zaradiť medzi peptidy, furany, pyreny, laktóny a pod. V tabuľke 3 je možné vidieť rozdelenie mykotoxínov podľa chemickej štruktúry.[41]

Tab. 3 Rozdelenie mykotoxíny podľa chemickej štruktúry[41]

Chemická štruktúra	Príklady mykotoxínov
Cyklické dipeptidy	Brevianamidy, fumitremorgen, gliotoxin, roquefortin, sporidesminy, verukulogeny
Epoxytrichothecen	Deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, fusarenony, nivalenol, roridiny, satratoxiny, T-2 toxin, verukatiny
Furanofurany	Aflatoxiny, sterigmatocystin, versikolorin
Griseofulviny	Griseofulvin
Nenasýtené laktóny	Alternariol, citreoviridin, kyselina mykofe-nolová, kyselina penicilová, ochratoxiny, patulin, psoralen, rubratoxin B
Polycyklické substinované indolové deriváty	Kyselina cyklopiazonová, paspaliny, penit-remy
Substituované chinony	Luteoskyrin, rubratoxin, viridikatumtoxin, xanthomegnin
Substituované pyreny a hydroxypyreny	Kyselina kojová, sekalonové kyseliny
Mykotoxíny s inou chemickou štruktúrou	Citrinin, curvularin, kyselina β -nitropropionová, moniliformin, PR-toxin, zearalenon

Rozdelenie mykotoxínov podľa spôsobu biosyntézy

Mykotoxíny sú sekundárne metabolity, ktoré môžu byť syntetizované z aminokyselín, isoprenoidov, polyketidov alebo z moniliforminu.

V tabuľke 4 je rozdelenie mykotoxínov podľa ich biosyntézy.[41]

Tab. 4 Rozdelenie mykotoxínov podľa ich biosyntézy [41]

Kategórie biosyntézy	Príklad zástupcu
Biosyntéza moniliforminu	Moniliformin
Biosyntéza z polyketidov	Patulín, ochratoxín, aflatoxín
Biosyntéza z isoprenoidov	Trichotheceny, roquefortiny
Biosyntéza z aminokyselín	Cyklické dipeptidy, kys. cyklopiaznová

Rozdelenie mykotoxínov podľa toxicity

Mykotoxíny podľa toxicity môžeme rozdeliť na základe kvalitatívne alebo kvantitatívneho pôsobenia

Kvantitatívna toxicita sa udáva ako LD₅₀ a na základe toho mykotoxíny rozdelujeme na silne, stredne alebo slabo toxické.[42]

Silne toxické mykotoxíny sa pohybujú radovo v jednotkách mg . kg⁻¹ telesnej hmotnosti. Medzi silne toxické mykotoxíny radíme hlavna aflatoxíny, patulín, ochratoxín A a pod.

Stredne toxické mykotoxíny sa pohybuje radovo v desiatkach mg . kg⁻¹ telesnej hmotnosti. Medzi stredne toxické radíme citrin, penicillové kyseliny, sterigmatocystin a pod.

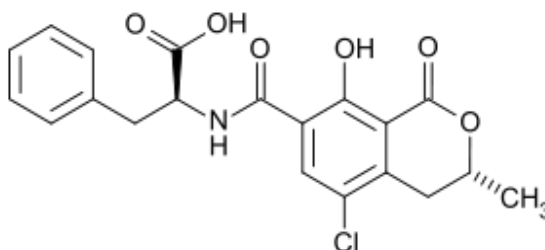
Slabo toxické mykotoxíny sa pohybujú v radovo v stovkách mg . kg⁻¹ telesnej hmotnosti. Medzi slabo toxické radíme trihotecium, kyselinu koji, griseofulvin apod. [43]

3.4.1.1 Ochratoxín

Skupinu ochratoxínov tvoria ochratoxín A, ochratoxín B a ochratoxín C. Z tejto skupiny je najdôležitejší a najtoxickejší ochratoxín A. Ochratoxikóza je celosvetovo vyskytujúca sa mykotoxikóza, popísaná u ľudí a zvierat, spôsobená prímom ochratoxínov. Symptómom mykotoxikózy spôsobený ochratoxínom A je postihnutie ľadvín a zoslabenie imunity. [41]

Ochratoxín A bol klasifikovaný ako karcinogén skupiny 2B. Má silné neferotoxické, teratogénne a imunosupresívne vlastnosti. [44]

Schéma 3 Vzorec ochratoxínu A [45]



Ochratoxín A je produkovaný niektorými druhmi plesne rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. V južných vinohradníckych regiónoch za vznik ochratoxínu A môže plesň *Penicillium* a v severných oblastiach plesň *Aspergillus*. V našich oblastiach ako je Slovensko, Česko a Rakúsko sa ochratoxín A zatiaľ nevyskytuje. Je však možné že časom sa môžu klimatické podmienky zmeniť na optimálne podmienky pre rozvoj pôvodcu vzniku ochratoxínu A. Zatiaľ je najväčší výskyt kontaminovaných vín v južných zemiach. Kontaminácií vín sa dá predchádzať zlepšením starostlivosti o vinohrady.

Vo vinárstve sa množstvo ochratoxínu A dá znížiť prídavkom siričitanov, ktoré zabraňujú jeho rýchlej macerácií. Skrátiť čas macerácie. Pri silnom napadnutí hrozna treba znížiť lisovacie tlaky a vyhnúť sa používaniu pektolytických enzýmov a nahradiť ich radšej filtráciou, odstredovaním alebo flotáciou. Suché vínne kvasinky dokážu znížiť obsah ochratoxínu. [45]

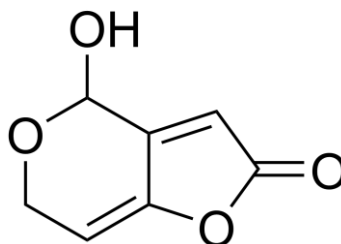
Tab. 5 Maximálne povolené hodnoty ochratoxínu A [45]

Maximálne povolené hodnoty ochratoxínu A
Hrozienka: 0,01 mg . l ⁻¹
Hroznový džús, mušt: 0,002 mg . l ⁻¹
Víno: 0,002 mg . l ⁻¹

3.4.1.2 Patulín

Patulín je nenasýtený lakton, je to metabolit rodu *Penicillium expansum*, *Penicillium claviforme*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus giganteum* a *Byssochlamys nivea*. [46]

Schéma 4 Vzorec patulínu [47]

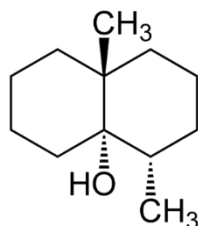


V ovocí sa vyskytujú ochranné látky ako napríklad vitamín C, ktorý zabraňuje rozkladu patulínu pri tepelnom spracovaní muštov. Patulín sa rozkladá pri teplote 80°C. Limity patulínu sú stanovené podľa možnej karcinogenity. V mušte sa nachádza v množstve niekoľko $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Patulín je jeden z mála dobre detoxikovaných mykotoxínov. Podstatou detoxikácie je reakcia patulínu s SH skupinami. Dokonca bol dokázaný aj rozklad patulínu počas alkoholického fermentácie. [48]

3.4.2 Geosmin

Geosmin je zlúčenina s výrazne zemitou, zatuchlou vôňou niekedy je vôňa po červenej repe. Má extrémne nízku senzoryckú hranicu 10 $\text{pg} \cdot \text{l}^{-1}$. Jeho prítomnosť je spätá z rastu vláknitých aktinomycét *Streptomyces sp.* a *Penicillium sp.*

Schéma 5. Vzorec geosminu [49]



Geosmin produkujú aj pôdne baktérie, ktoré sa však vo víne a jeho nízkom pH nemnožia. Jeho hlavným zdrojom vo víne sú plesne v korku. Býva pravdepodobnejšie že kork je kontaminovaný geosminom a nie chloranisoly.

Geosmin je terciárny alkohol a v kyslom prostredí je náchylný na dehydratáciu za vzniku nenasýteného dimethyldekalínu. Pri pH a teplote vína je tento proces ale veľmi pomalý. V kyslom prostredí vína sa rozkladá približne 2 mesiace pri teplote 20°C alebo 8 mesiacov pri teplote 10°C. [50]

Množstvo geosminu sa dá stanoviť plynovou chromatografiou.[51]

3.5 Kontaminácia plesňami z nádob a hadíc

Nádoby na víno rozdeľujeme podľa **účelu** a podľa **materiálu** z ktorého je vyrobená.

Podľa **účelu** : 1. Hlavné, v ktorých víno kvasí, zreje, ošetruje sa a školí

2. Pomocné, ktoré slúžia na bežné manipulácie s vínom napr. kade, vedrá,
Lieviky a pod.

Podľa **materiálu**: 1. drevené

2. železobetónové

3. kovové

4. plastové

5. kameninové

6. sklenené

3.5.1 Drevené nádoby

Z hľadiska údržby a hygieny sú pre nás najnáročnejšie drevené nádoby. Napriek tomu sú vo vinársky prevádzkach neodmysliteľnou súčasťou a vo výrobe vín a to hlavne červených majú nezastupiteľné miesto.

Ich hlavnými výhodami je že sú jemne pórovité čo umožňuje prísun kyslíku do vína. Takto sa zabezpečuje prísun kyslíku pre kvasinky a mikrooxidáciu k vyzrievaniu vína .

Dajú sa vyrábať v rozličných veľkostiach, dá sa nimi manipulovať a premiestňovať. V krajnom prípade sa dajú aj rozobrať a znovu zložiť. Po navínení nedávajú vínu žiadnu negatívnu cudziu príchuť práve naopak zvyšujú kvalitu vína.

Nevýhodou drevených nádob je ich relatívne krátka trvácnosť cca 50 rokov. Pórovitosť dreva má za následok väčší výpar vína. Vzniká väčšie nebezpečenstvo kontaminácie mikroorganizmami. Ich údržba je prácna a nákladná. Nádoby použité na výrobu červeného vína sa už nedajú požiť na výrobu bieleho vína.

Drevené sudy sa vyrábajú z dubového a agátového dreva. Najlepšie sú sudy vyrobené z dubového dreva, ktoré je zo stromu rastúceho vo vyšších polohách.[52] Čím sú sudy väčšie tým musí byť aj drevo vyššej kvality a môže byť použité iba drevo z jadra. Na výrobu sudov sa používa dokonca aj gaštanové drevo. Jeho nevýhodou je že je redšie a menej trvanlivé. Z jaseňového dreva sa vyrábajú najmä rôzne pomocné nádoby.

3.5.1.1 Ošetrovanie sudov

Sud do veľkej miery ovplyvňuje kvalitu vína preto je potrebné venovať jeho údržbe a ošetrovaniu veľkú pozornosť. Hlavnými úlohami v údržbe sudov zohráva starostlivosť o vnútro suda, ktorá sa dá dosiahnuť sírením, ktoré potláča činnosť mikroorganizmov.

Vonkajšia časť suda je tiež dôležitá a preto ju je treba tiež pravidelne ošetrovať.[52]

3.5.1.2 Sírenie sudov

Najpoužívanejší spôsob konzervácie sudov je ich sírenie. Aj po vyčistení suda vodou zostávajú v jeho póroch alebo pod vínnym kameňom mikroorganizmy a to hlavne plesne. K ich rozvoju im stačí vlhkosť a malé stopy nečistôt ako napríklad kvasničné kaly. Sudy sa najčastejšie konzervujú plynným SO₂ spaľovaním sírnych rezov. Časť oxidu siričitého oxiduje a časť unikne. Túto operáciu je teda nutné robiť každých 6 týždňov. Množstvo síri závisí od veľkosti sudu. [53]

V tabuľke (6) je možné vidieť množstvo dávky síry na daný objem.

Tab. 6 Dávky síry pri sírení prázdnych sudov [53]

Objem suda (hl)	Množstvo síry v g na hl
2	2 - 2,5
3 - 5	1,5 - 2
6 - 10	1 - 1,5
10 - 20	0,6 - 1
20 - 30	0,25 - 0,5
30 - 50	0,25
viac ako 50	menej než 0,25

3.5.1.3 Udržovanie vonkajšieho povrchu sudov

Sudy bývajú v pivnici väčšinou uložené vo vlhkom prostredí, ktoré poškodzuje povrch sudov a aj oceľové obruče. Bez údržby by sudy boli za krátku chvíľku pokryté plesňou. Preto treba sudy konzervovať.

Na konzerváciu vonkajšieho povrchu sudov sa najčastejšie používa fermež, ľanový olej a fluorokremičitany. Musia to byť látky bez zápachu a musia rýchlo schnúť. Tieto látky chránia drevo pred plesňami a nežiaducimi mikroorganizmami. Neupchávajú póry úplne a víno môže normálne vyzrievať prostredníctvom mikrooxidácie.

3.5.1.4 Úprava plesnivých sudov

Drevený sud by sa po umytí mal zasíriť inak býva veľmi rýchlo napadnutý plesňami. Plesne sa v takýchto priaznivých podmienkach ako je vlhký sud veľmi rýchlo šíria a vytvárajú celé súvislé plochy. Plesnivé sudy je veľmi ľahké rozoznať aj čuchom, pretože namiesto vínovej vône je cítiť plesňou.

Sudy napadnuté plesňou sa vymývajú 2 % roztokom sódy. Následne sa súd vypláchne horúcou a studenou vodou. Ak tento spôsob nezaberie je treba sud oddebníť a vydrhnúť suchou oceľovou kefou a sud vymyť 2 % roztokom sódy alebo ho vypariť.

Pri zanedbaní konzervácie a čistení sudov sa pleseň nedá už úplne odstrániť. [54]

3.5.2 Ostatné nádoby

Z hľadiska rozvoja plesní sú nádoby vyrobené z nerezovej oceli, skla a plastu veľmi dobre odolné a ich materiál je veľmi ľahko umývateľný. Problém môže nastať u nádob železobetónových a kameninových kde materiál má svoju pórovitosť kam sa dokáže plesne dostať. Prípadne časom vznikajú trhliny kde sa môžu začať zhromažďovať mikroorganizmy. Trhliny je nutné opraviť.

3.5.3 Hadice a potrubia

Hadice a potrubia bývajú častými príčinami kontaminácie vína plesňami. Preto treba dbať na ich dôkladnú hygienu a po každom použití ich je treba dôkladne ošetriť. Rmut, mušt aj víno býva medzi jednotlivými operáciami dopravované pomocou stacionárnych rozvodov alebo plastových hadíc. Stacionárne rozvody bývajú najčastejšie v nerezovom, sklenenom alebo plastovom prevedení.

Potrubia treba pred a po každom použití prepláchnuť pitnou vodou. Niekedy však len prepláchnutie pitnou vodou nestačí a pre sanitáciu a dezinfekciu musí byť zvolený mechanický, chemický alebo mechanicko-chemický spôsob čistenia.

Mechanický spôsob čistenia hadíc a potrubí sa prevádza pomocou kefy s predĺženou násadou. Čistenie pomocou loptičky vyrobenej z molitanovej peny.

Loptička sa vloží do hadice kde je posúvaná tlakom privádzajúcej vody. V moderných vinárskych prevádzkach sú využívané tvarovo usposobené torpéda, ktoré sa vloží do hadice a je posúvané tlakom prichádzajúcej vody. Na rozdiel od molitanovej loptičky sa torpéda môžu využívať opakovane.

Chemický spôsob čistenia je výrazne účinnejší ako mechanický spôsob čistenia a to hlavne pri odstraňovaní mikroorganizmov. Štandardne sa na čistenie využívajú roztoky hydroxidu sodného alebo uhličitanu sodného o koncentrácií 2%. Hadice možno dezinfikovať ponorením do vodného kúpeľa s dezinfekčným prostriedkom. Výhodou tejto sanitácie je okrem dôkladného očistenia vnútra aj vyčistenie vonkajšieho povrchu hadice. Stacionárne rozvody sa pri chemickom čistení skladá z niekoľkých frakcií a sú napojené na uzavretý okruh.

Mechanicko-chemický spôsob čistenia je kombináciou dvoch predchádzajúcich postupov. Najčastejšie sa používa kombinácia molitanovej loptičky a dezinfekčného prípravku. [55]

3.6 Odstránenie pachuti po plesni a hnilobe

Pachúť po plesni býva veľmi nepríjemná a vo víne je nežiaducou zložkou, ktorá v značnej miere ovplyvňuje organoleptické vlastnosti vína. Odstránenie organoleptických defektov spôsobených plesňami je možný iba vo víne s menšou príchuťou po plesni.

Odstránenie je možné čírením kazeínom dávkou 10 až 30 g . 100 l⁻¹ alebo aktívnym uhlím dávkou 10 až 40 g . hl⁻¹. Po takomto ošetrení je nutné víno sceliť so zdravším kyslým vínom. [56]

Pachúť po hnilobe je vadou vína, ktorá je pôvod už vo vinici. Je následkom infekcie rôznych hubami druhu *Penicillium* (biela hniloba) a druh *Aspergillus* (zelená pleseň). Takýto hnilobný materiál má nepríjemne nahorklé chuťové tóny. Napadnutie zhubnou formou Botrytídy má nežiaduce zmeny respektíve vytvára oxidačné produkty, ktoré majú za následok negatívne ovplyvnenie arómy hrozna a vína.

Nahnilé hrozno je treba čím najskôr spracovať a vyhnúť sa dlhšiemu naležaniu rmutu.

Odstránenie pachuti po hnilobe je možné za pomoci prídavku bentonitu. Bentonit okrem odstránenia termolabilných bielkovín znižuje aj obsah polyfenolových oxidáz. Takto ošetrované víno ma menšiu tendenciu k hnednutiu a aj spotreba SO₂ klesá.

Ošetrovanie aktívnym uhlím. Aktívne uhlie má veľké vnútorné povrchové plochy so silným adsorpčným účinkom na farbivá a aromatické látky. Okrem negatívnych aróm sa adsorbujú aj príjemné aromatické látky.[57]

Tab. 7 Použitie aktívneho uhlia [57]

Dôvod použitia	g uhlia na hl vína/muštu	možne kombinovať s
Lahko nečistá chuť	10-20	gélom kyseliny kremičitej so želatínou
Lahko vysoká farba	10-20	gélom kyseliny kremičitej so želatínou
Lahký hnilobný tón v mušte	20-40	bentonitom
Silný hnilobný tón v mušte	50-100	bentonitom
Mrazová príchuť	50-100	-
Odfarbenie/zbavenie chuti	200-400	-

3.7 Metódy stanovenia

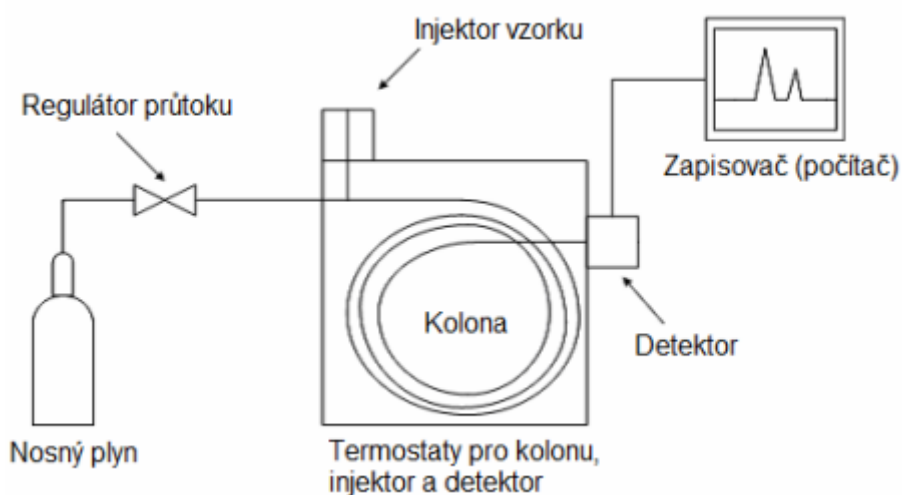
Metódy stanovenia rôznych látok vo víne v našom prípade hlavne mykotoxínov je z hľadiska ľudského zdravia veľmi dôležité. Obsah týchto látok je dokonca zákonom limitovaný. Mykotoxíny ako napríklad ochratoxín A a patulín sú silne toxické a ich konzumácia vo vyššej miere môže mať za následok vážne zdravotné problémy

3.7.1 Stanovenie plynovou chromatografiou

Plynovou chromatografiou je možné stanoviť množstvo geosminu v mušte alebo víne

Táto metóda určená k deleniu a stanoveniu plynu, kvapaliny a pevných látok s bodov varu do 400°C. Táto metóda je založená na rozdeľovaní dvoch fáz, fázy pohyblivej (mobilná) a nepohyblivej (stacionárna). V plynovej chromatografii je mobilná fáza plynu nazývaná nosný plyn. Stacionárna fáza je umiestnená v chromatografickej kolóne. Stacionárna fáza u naplňovaných kolón môže byť pevná látka alebo vysoko vriaca kvapalina nanosená v tenkej vrstve na pevnom, internom nosiči. U kapilárnych kolón je stacionárna fáza nesená v tenkej vrstve priamo na upravenú vnútornú stenu kremennej kapiláry.

Princípom separácie látok v plynovej chromatografii je nasledujúci. Vzorka sa vnesie do vyhrievaného bloku (nástreková komora), kde sa odparí a vo forme pary je nosný plyn nesený do kolóny. Zložky zo vzorku sa sorbujú na začiatku kolony v stacionárnej fáze a potom desorbujú čerstvým nosným plynom. Nosný plyn unáša zložky vzorku ku konci kolóny a deliaci proces sa neustále opakuje. Látky postupne vychádzajú z kolóny v poradí rastúcich hodnôt distribučných konštánt a vchádzajú do detektora. Detektor indukuje okamžitú koncentráciu separovaných látok v nosnom plyne. Výsledný grafický záznam sa nazýva chromatogram. [58]



Obr. 14 Zjednodušená schéma plynového chromatografu [59]

3.7.2 Stanovenie imunochemické

Imunochemické metódy sú založené na interakcií antigénu a protilátky. Pomocou tejto metódy môžeme stanoviť v biologickom materiály celú radu cudzorodých látok v našom prípade mykotoxíny. Tieto hodnoty treba poznať lebo sú zákonom limitované. Antigen je makromolekulárna látka umelého alebo prírodného pôvodu, ktorú organizmus rozpoznáva ako cudziu. Pokiaľ je antigén vložený do organizmu, navodí imunitnú odpoveď. Príde k stimulácií lymfocytov, ktoré po diferenciácií produkujú plazmatické bunky schopné sekreťovať protilátky. Protilátka je molekula, ktorá je schopná naviazať sa na antigén a tým spustiť obranú reakciu organizmu. Poznáme polyklonálnu protilátku (proti viacej epitopov určitého antigénu), monoklonálnu protilátku (proti jednému epitopu antigénu) a rekombinantná protilátka (kombinácia obi dvoch predchádzajúcich).
[60]

4. Záver

Plesne a hubové choroby sú vo vinohradníctve a vinárstve veľmi podstatnou zložkou, ktorá negatívne ovplyvňuje kvalitu hrozna a vína. Len v niektorých prípadoch sú hubové choroby a plesne zodpovedné za pozitívny účinok na kvalitu vína. Vo väčšine prípadov však pôsobí negatívne čo má za následky kvantitatívne a kvalitatívne straty. Možnou ochranou proti hubovým chorobám môže byť nie len používanie fungicídnych prípravkov ale aj pestovanie rezistentných odrôd, ktoré sú voči hubovým chorobám odolnejšie. Tým sa znižujú dávky postrekov a znižuje sa aj obsah rezíduí v mušte a víne.

Treba vedieť že nie len hrozno z vinice môže kontaminovať víno plesňami ale môže byť kontaminované aj v pivničnom hospodárstve prostredníctvom zle ošetrovaných skladovacích nádob, pomocných nádob ale aj hadíc a stacionárnych potrubí. Hygiena je základom pre každé vinárstvo, ktoré chce vyrábať kvalitné víno. Sanitácia nádob a potrubí sa prevádza mechanickým spôsobom, chemickým spôsobom a ich kombináciou. Je už len na každého osobnom presvedčení a skúsenostiach akú formu zvolí za optimálnu.

Jednou z nežiaducich látok vznikajúcou plesňami sú mykotoxíny. Sú to sekundárne metabolity plesní. Patria medzi toxíny prírodného pôvodu vyskytujúce sa v potravinách. Sú vytvárané väčšinou saprofytickými plesňami a sú toxické pre človeka a ďalšie organizmy.

Obsah jednotlivých látok vo víne v tomto prípade týkajúcich sa plesní a ich sekundárnych metabolitov sa dá stanoviť pomocou plynovej chromatografie (geosmin) a imunochemickej metódy (mykotoxíny).

5. Zhrnutie a kľúčové slová

Táto práca sa zaoberala problematikou dopadu plesní na kvalitu vína. Objasňuje negatívne dopady plesní, ktoré sa vyskytujú už vo vinohrade na strapcoch hrozna a ostatných častiach viničového kra. Vysvetľuje tiež že plesne sa do vína nedostávajú len z hrozna napadnutého hubovými chorobami ale aj počas výroby a školení vína v pivničnom hospodárstve. Rozoberá vlastnosti a dopady niektorých sekundárnych metabolitov plesní a ich zmeny ovplyvňujúce kvalitu vína. Ďalej popisuje metódy stanovenia niektorých látok negatívne ovplyvňujúcich organoleptické vlastnosti vína a dokonca ohrozujúce zdravie človeka.

Kľúčové slová: plesneň, organoleptické, mykotoxín, defekt, hniloba, sud

6. Summary and keywords

This thesis dealt with the issue of an impact of mildew on wine quality. It clarifies the negative effects of mold which already occur in vineyard on grape bunches and the rest of the vine bush. It also explains that the mold is not getting into the wine only from mold infected grapes but also during the wine making and wine improving in cellar management. The thesis analyzes the characteristics and impacts of mold secondary metabolites and their wine quality affecting changes. It further describes a method of determination of certain substances that affect organoleptic wine characteristics and even threaten a human health.

Keywords: mold, organoleptic, mycotoxins, defect, rot, barrel

7. Zoznam použitej literatúry

1. Neznámy, A. *Mold*. 2015; [cit. 26.3.2015] Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Mold>.
2. Myers, F. *What Is Mold?* 2008; [cit. 24.4.2015] Available from: http://www.intuitiveenvsol.com/What_Is_Mold.
3. MVDr. Vladimír Ostrý, C. *Plísně*. [cit. 8.4.2015] Available from: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76753.aspx>.
4. Neznámy, A *Heterotrofia*. 2013; [cit. 3.4.2015] Available from: <http://sk.wikipedia.org/wiki/Heterotrofia>.
5. Neznámy, A. *Parazitizmus*. 2015; [cit. 2.4.2015] Available from: <http://sk.wikipedia.org/wiki/Parazitizmus>.
6. Neznámy, A . *Saprofytizmus* 2008; [cit. 13.4.2015] Available from: <http://sk.wikipedia.org/wiki/Saprofytizmus>.
7. P.Pavloušek, *Pěstování révy vinné* 2011, Grada Publishing: Praha. p. 279-290. ISBN 978-80-247-3314-2
8. G. Vanek, Z.V., S. Lajos, T. Vanek, K. Staroňová. *Múčnatka viniča* 2009; [cit. 23.4.2015] Available from: <http://www.galati.sk/index.php?page=2009/06/01>.
9. Neznámy, A .*Šedá hniloba hroznů révy (plíseň šedá)*. [cit. 6.4.2015] Available from: <http://www.ekovin.cz/plisen-seda>.
10. Neznámy, A. *Šedá hniloba hroznů a botrytiová hniloba květenství révy* 2014; [cit. 2.4.2015]
Available from: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=3436.
11. Neznámy, A .*Šedá hniloba hroznů révy (plíseň šedá)*. 2015; [cit. 22.4.2015]
Available from: <http://www.ekovin.cz/plisen-seda>.
12. Neznámy, A . *Biela hniloba viniča* [cit. 26.4.2015] Available from: <http://www.lacnepostreky.sk/katalog.chorob.a.skodcov/vinic/biela.hniloba.vinica>
13. Kakalíková, Ľ. *Ochrana viniča na konci vegetačného obdobia a vplyv biotických a abiotických faktorov na vinič*. 2005; Available from <http://old.agroporadenstvo.sk/rv/vinic/choroby.htm>.
14. D. Míša a kol. *Hořká hniloba - Trichotecium roseum na plísni šedé*. 2002; Available from: <http://www.wine.cz/choroby/09a1.html>.

15. G. Vanek, Z.V., S. Lajos, T. Vanek, K. Staroňová *Ešte nás ohrozujú hniloby na hrozne*. 2010; [cit. 26.4.2015] Available from:
<http://www.galati.sk/index.php?page=2010/09/01>.
16. Lozzia, C., *Integrated control of Rotbrenner (Pseudopezicula tracheiphila (Müll.-Thurg.) Korf & Zhuang (Discomycetes, Helotiales) in the wine growing region Moselle-Saar-Ruwer* 2000. p. 79.
17. Sochor, J. *Červená spála révy vinné (Pseudopeziza tracheiphila)*. 2014; [cit. 22.4.2015] Available from:
http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=2914.
18. Mostert, L.C., P. W.; Petrini, O. *Endophytic fungi associated with shoots and leaves of Vitis vinifera, with specific reference to the Phomopsis viticola complex*. 2000. **52**, 46-58.
19. *Čierna škvrnitost' viniča - príznaky sú na prezimujúcich výhonkoch*. 2006; [cit. 16.4.2015] Available from: <http://www.galati.sk/index.php?page=2006/04/01>.
20. G. Vanek, Z.V., S. Lajos, T. Vanek, K. Staroňová. *Čierna škvrnitost' viniča - príznaky sú na prezimujúcich výhonkoch*. 2006; [cit. 2.5.2015] Available from:
<http://www.galati.sk/index.php?page=2006/04/01>.
21. Molitor, D. *Guignardia bidwellii*. 2013; [cit. 22.4.2015] Available from:
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Guignardia_bidwellii_02.jpg.
22. Gubler, W.D.J., *Progress Report, Epidemiology, biology and detection of Phaeoacremonium spp. and Phaeomonniella chlamydospora Vine Decline (black measles or esca and Petri disease (syn:Young vine decline) in California*. 2004.
23. Mugnai, L., A. Graniti & G. Surico., *Esca (Black Measles) and Brown Wood-Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevines*. 1999. p. 404-418.
24. O'Gorman, D.T., P. Haag & P.L. Sholberg, *New Diseases Causing Decline of Wine Grapes in the Okanagan Valley*. 2008.
25. Robinson, J. *Esca and friends*. 2013; [cit. 26.4.2015] Available from:
<http://www.jancisrobinson.com/articles/esca-and-friends>.
26. A. Eskalne, D.G., G. Levitt. *Esca and Young esca*. 2015; [cit.13.4.2015] Available from:
http://iv.ucdavis.edu/Viticultural_Information/?uid=206&ds=351.
27. Gubler, W.D. *Esca / Young Vine Decline*. 2009; [cit. 19.4.2015] Available from: <http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/grapeipm/esca.htm>.

28. P. LECOMTE , D.J.B., *Studies on the infestation by Eutypa lata of grapevine spring wounds* 2011. p. 35–41.
29. Munkvold, G. *Eutypa dieback of grapevine caused by Eutypa lata*. 2015; [cit. 26.4.2015] Available from:
http://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/jan_87-1-3.aspx.
30. Fleet, G.H., *Yeast interactions and wine flavour*, in *International Journal of Food Microbiology*. 2003. p. 11-22.
31. Farkaš, J., *Biotechnológia vína*. Plesne. 1983, Bratislava: ALFA. 260-263.
32. Sedláček, M. *Glycerol*. 2015; [cit. 10.4.2015] Available from:
<http://www.znalecvin.cz/glycerol/>
33. Rib'ereau-Gayon, *Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. 2006, Chichester: West Sussex. p. 56-58.
34. Farkaš, J., *Biochemické zmeny pri napadnutí hrozna ušľachtitou plesňou Botrytis cinerea* in *Biotechnológia vína*. 1983, ALFA: Bratislava.
35. J. Sochor. *Vedlejší produkty alkoholové fermentace* 2013; [cit. 23.4.2015] Available from:
http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1224.
36. J Sochor, *Vady vín vzniklé v průběhu MLF*. 2013; [cit. 20.4.2015] Available from:
http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1266.
37. J. Kováč a kol., *Hnitie hrozna - zhubná hniloba*, in *Spracovanie hrozna*. 1990, Príroda: Bratislava. p. 11. ISBN 80-07-00313-4
38. Neznámy, A . *O tokajskom víne*. 2015; [cit. 11.4.2015] Available from:
<http://www.tokajskévino.sk/tokajske-vino/o-tokajskom-vine/>.
39. Henriett, K. *What is 'Noble Rot'?*. 2013; [cit. 24.4.2015] Available from:
<http://winefolly.com/tutorial/they-call-it-noble-rot-botrytis/>.
40. Neznámy, A . *Enzymatické preparáty ve vinařství*. [cit. 11.4.2015] Available from: <http://www.wine.cz/reva/vo6.htm>.
41. BŘEZINA, P., ŠIMŮNEK, J., *Mykotoxiny*. 1996, VVŠPV: Vyškov.
42. Polster, M., *Nížší houby v poživatinách* in *Mikrobiologie v hygieně výživy*. 1984, Avicenum: Praha p. 21-42.
43. Ueno, Y., *Toxicology of mycotoxins*. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 1985: p. 99-132.
44. Belajová, E., Rauová D, *Determination of ochratoxin A*

- and its occurrence in wines of Slovakian retail*, in *Journal of Food and Nutrition Research*. 2007. p. 68-74.
45. M. Baroň, J.H. *Ochratoxín A v Európskej únii a u nás, jeho zákonné limity a spôsoby eliminácie*. [cit. 22.4.2015] Available from:
<http://www.enolog.cz/ochratoxin-a-v-eu-a-cr>.
46. ŠIMŮNEK, J., *Biologické metody stanovení zdravotního rizika mykotoxinů v poživatinách*, in *Kandidátská disertační práce*. 1985, LFH UK: Praha. p. 96.
47. *Patulin*. 2014; [cit. 28.4.2015]
Available from: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Patulin.png>.
48. Šimůnek, J. *MYKOTOXINY*. 2003; Available from:
http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtpr_idx.htm.
49. Neznámy, A. *Geosmin*. 2015; Available from:
<http://en.wikipedia.org/wiki/Geosmin>.
50. Neznámy, A. *S noseem v hlíně a kamenech*. 2009; [cit. 1.5.2015] Available from:
<http://peejee.blog.cz/0902/s-nosem-v-hline-a-kamenech>.
51. P. Darriet, S.L., S. La Guerche, M. Pons, D. Dubourdieu, D. Blancard, P. Steliopoulos, A. Mosandl, *Stereodifferentiation of geosmin in wine*, in *European Food Research and Technology*. 2001. p. 122-125.
52. J. Kováč a kol., *Nádoby na víno* in *Spracovanie hrozna*. 1990, Príroda Bratislava. p. 27-35. ISBN 80-07-00313-4
53. J. Kováč a kol., *Sírenie sudov* in *Spracovanie hrozna*. 1990, Príroda: Bratislava p. 142-143. ISBN 80-07-00313-4
54. Farkaš, J., *Nádoby na víno* in *Biotechnológia vína* 1983, ALFA: Bratislava. p. 872-893.
55. P. Burg , P.Z., *Údržba a čistení hadíc a potrubí* in *Stroje a zařízení pro vinařství* 2014, AGRIPRINT, s.r.o.,: Olomouc. p. 132-133. ISBN 978-80-87091-49-4
56. J. Kováč a kol., *Príchut' po plesni* in *Spracovanie hrozna* 1990, Príroda Bratislava p. 235. ISBN 80-07-00313-4
57. Eder, R., *Ošetrenie hnilobného tónu* in *Vady vína* 2003, Národní vinařské centrum, o.p.s: Valtice. p. 22-23.
58. Pavel Zachař, D.S. *PLYNOVÁ CHROMATOGRÁFIE*. Obecné základy; Available from: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>.

59. Neznámy, A. *Plynová chromatografie*. [cit. 23.4.2015] Available from:
http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf.
60. Neznámy, A. *Imunochemické metody*. [cit. 26.4.2015] Available from:
http://www.wikiskripta.eu/index.php/Imunochemick%C3%A9_metody.