

Význam glutatiónu pre kvalitu hrozna a vína

Bakalárska práca

Vedúci práce:

doc. Ing. Pavel Pavloušek, Ph.D.

Vypracoval:

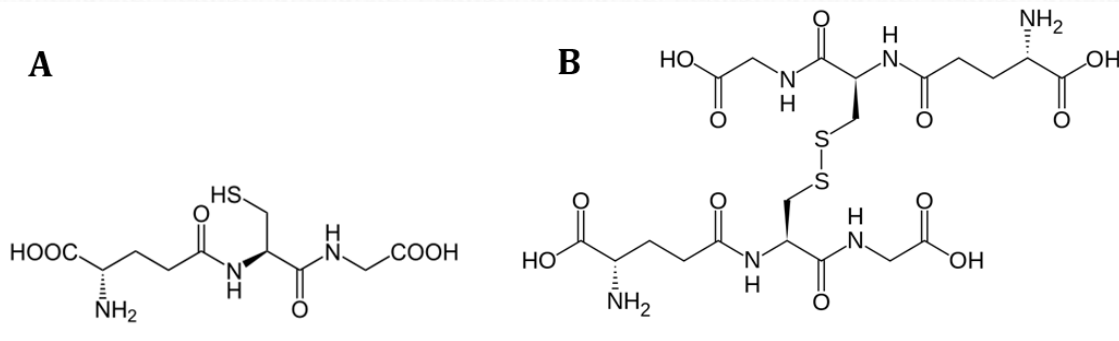
Ing. Michal Kacina

Ciele práce

- Sústrediť informácie o obsahu a význame glutatiónu v hrozne a víne.
- Spracovať poznatky o vplyve agrotechnických zásahov vo vinohrade a enologických postupoch vo vzťahu ku glutatiónu.
- Doporučiť možnosti využitia glutatiónu v praxi.

Glutatión

- Tripeptid: L-glutamát, L-cysteín a L-glycín



Zdroj: WIKIPEDIA 2014.

- Význam:

- Antioxidačné vlastnosti
- Ochrana proti reaktívnymi formami kyslíka
- Súčasť enzýmov

(A) Glutatión (GSH)

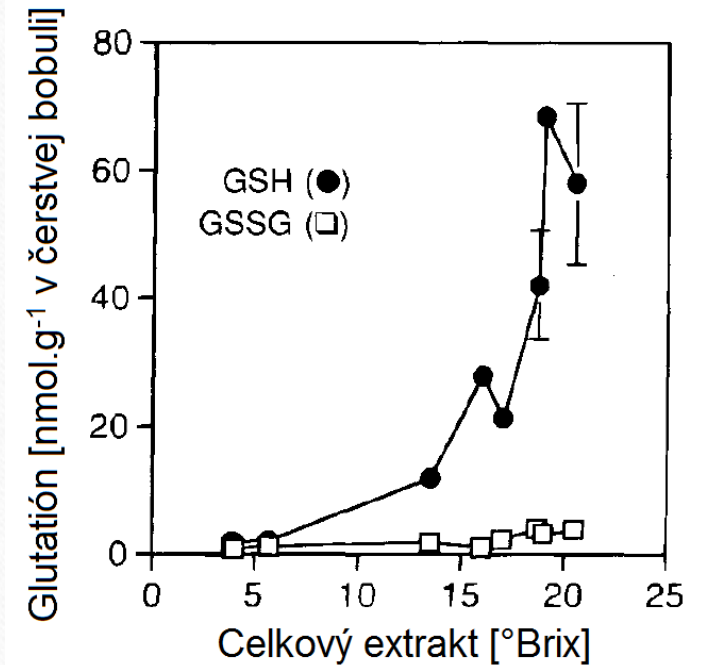
(B) Glutatión disulfid (GSSG)

90% glutatiónu je v bunke vo forme GSH

- GSSG vzniká oxidáciou GSH
- Spätná redukcia GSSG na GSH je za potreby NADPH

Glutatión v hrozne

- Biosyntéza glutatiónu:
 - Glutamát – asimilácia dusíka z pôdy
 - Cysteín – asimilácia síry (síranov) z pôdy
 - Glycín – fotorespirácia
- Akumulácia glutatiónu:
 - Je všeobecná vlastnosť dozrievania bobule
 - Obsah glutatiónu sa zvyšuje od začiatku dozrievania (od zamäkania)
 - Koreluje s akumuláciou celkového extraktu
 - Prebieha do doby 16° Brix celkového extraktu, 90% je vo forme GSH



Zdroj: OKUDA a YOKOTSUKA 1999.

Glutatión v hrozne

- Faktory akumulácie:
 - Množstvo dostupného dusíka (vyjadriteľný ako YAN v mušte)
 - Hnojenie / dostatok dusíka počas násady bobúľ
 - Aj listová forma hnojiva
 - Dostatok vlahy v pôde – prudký stres zo sucha vplýva negatívne
- Ďalšie spojitosti:
 - Zníženie obsahu antioxidantov v rastline (GSH) vedie k zníženiu odolnosti voči chladu a mrazu
 - Rastlina pri vonkajšom strese (UV žiarenie, prehriatie, napadnutie plesňami) produkuje viac GSH na detoxifikáciu
 - Listy z kra napadnutého GFLV obsahujú viac GSH
 - GSH v listoch kra napadnutého ESCA klesá ešte pred objavením sa symptómov



Glutatión v hrozne

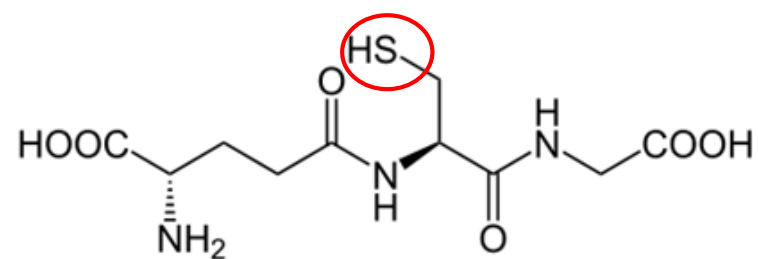
- Vplyv zelených prác:
 - Čo najväčší pomer listovej plochy k úrode (až $1,85 \text{ m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$)
 - Vyššia koncentrácia GSH v mušte
 - Vyšší obsah 3MH volatilných thiolov vo víne (Sauvignon)
 - Odlistenie v zóne strapcov nemá výrazný vplyv



Glutatión vo víne



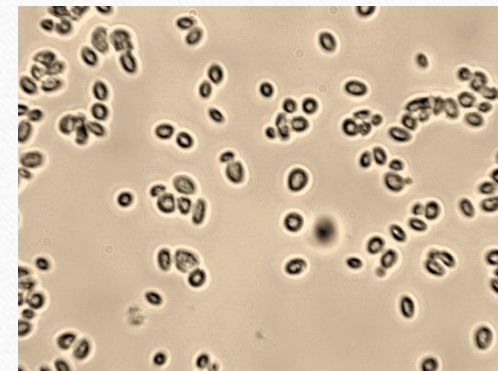
- Thiolová skupina cysteínu zodpovedná za antioxidačné vlastnosti GSH



Zdroj: WIKIPEDIA 2014.

- Hlavný význam pre biele odrody:
 - Oxidácia muštu
 - Hnednutie muštu
 - Ochrana volatilných látok
 - Synergický efekt s SO₂
- Obsah vo víne až do 100 mg.l⁻¹, faktory:
 - Vystavenie kyslíku: minimalizovať
 - Aktivita tyrosinázy
 - Dĺžka predfermentačnej macerácie: zvýšenie od 2 do 55% v prvých dvoch hodinách, reduktívna macerácia
 - Podmienky počas lisovania: reduktívne podmienky

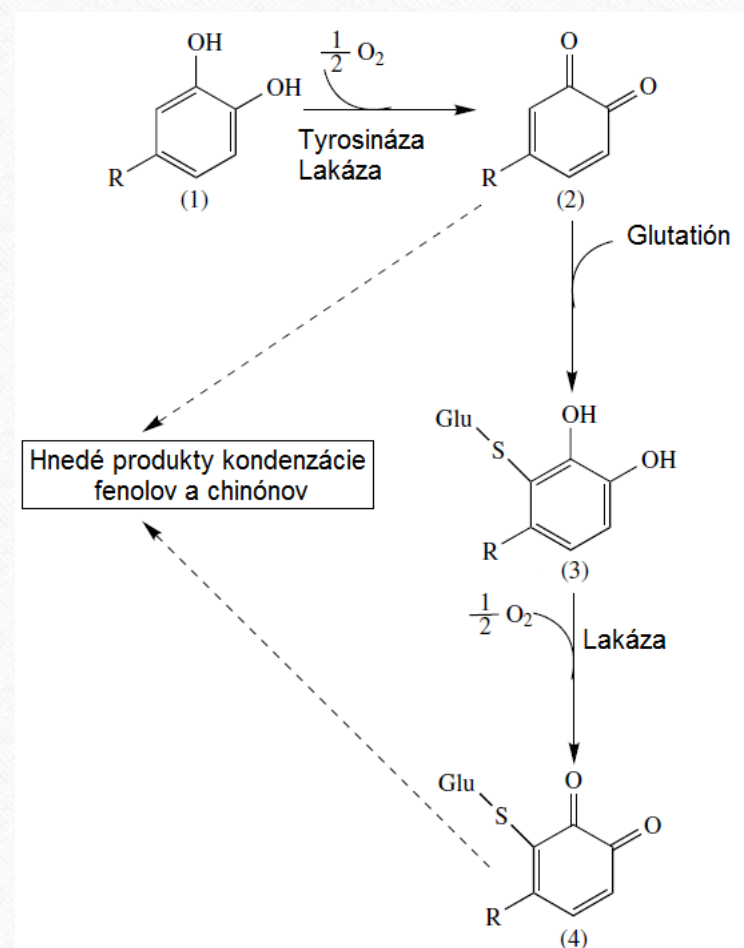
Glutatión vo víne



- Kvasinky:
 - Glutatión je vnútrobunková zložka kvasiniek
 - Zdroj dusíka a síry (cysteín)
 - Súčasť stresových reakcií
 - Detoxifikácia reaktívnych foriem kyslíka (odbuťovanie peroxidu vodíka v askorbát-glutatiónovom cykle)
 - Konjugácia GSH na xenobiotiká a ťažké kovy, vylúčenie do vakuoly
 - Kvasinkami je glutatión prijímaný aj vylučovaný
 - Vplyv kmeňa kvasiniek na výslednú hladinu GSH vo víne
 - Pri sur lie klesá hladina GSH vo víne pomalšie (redukčný potenciál kvasiniek bráni oxidácii GSH)
 - Obsah GSH vo víne koreluje s obsahom YAN v mušte

Glutatión vo víne

- Antioxidant:
 - Enzymatická oxidácia – hnednutie muštu
 - Glutatión reaguje s chinónmi za vzniku bezfarebnej GRP
 - GRP nie je oxidovateľný tyrosinázou, farba muštu sa nemení
 - Lakáza z napadnutého hrozna (*Botrytis cinerea*) oxidiuje GRP
 - Fixácia druhej molekuly GSH redukuje chinón na fenol a oxidácia je limitovaná
 - Pozitívny efekt GSH a kyseliny askorbovej v mušte
 - Neenzymatická oxidácia – hnednutie vína
 - GSH vo víne bráni oxidácii fenolických zlúčenín za vzniku polymerizovaných hnedých produktov
 - Táto schopnosť je nezávislá na teplote alebo prítomnosti medi alebo železa vo víne



Zdroj: SALGUES et al. 1986.

Glutatión vo víne

- Volatilné látky:
 - Estery a terpény:
 - GSH vo víne inhibuje pokles ich koncentrácie
 - Efektívne sú nižšie hladiny voľného SO_2 (35 mg.l^{-1}) s prídavkom 20 mg.l^{-1} GSH
 - Aj na ochranu arómy mladých červených vín
 - Volatilné thioly:
 - Sú citlivé na oxidáciu počas skladovanie vína
 - Predfermentačná macerácia zvyšuje koncentráciu prekursorov v mušte
 - GSH ako thiol súperí s aromatickými thiolmi pri väzbe na *O*-chinóny a znižuje tak stratu odrodovej vône
 - Efektívny je prídavok GSH pri fľaškovaní
 - Prekurzory:
 - $\text{Glut-3MH} \rightarrow \text{Cys-3MH} \rightarrow \text{3MH}$
 - $\text{Glut-4MMP} \rightarrow \text{Cys-4MMP} \rightarrow \text{4MMP}$

Glutatión vo víne

- Volatilné látky:
 - Sírovodík
 - GSH môže prispievať až do 40% H_2S tvoreného počas alcoholickej fermentácie (degradácia cysteínu)
 - Hlavne v muštach s deficitom YAN
 - Prílišný prídavok GSH pri fľaškovaní vytvorí redukčné podmienky podporujúce tvorbu H_2S
- Netypické starnutie vína:
 - Prídavok GSH do vína obmedzuje tvorbu
 - Oxidatívnych prípadov (sotolon, 2-AAP)
 - Žltých pigmentov počas skladovania



Glutatión vo víne

- Malolaktická fermentácia:

- Prídavok GSH podporuje rast baktérií *Oenococcus oeni* a zrýchľuje proces MLF
- Hladina GSH po MLF klesá alebo zostáva rovnaká
- Potrebný ďalší výskum

- Šumivé vína:

- Prídavok do muštu – šumivé víno má menšiu koncentráciu acetaldehydu
- Prídavok do základného vína – napomáha výskytu spontánnej MLF, znižuje koncentráciu fenolických látok, umožňuje zníženie prídavku SO₂
- Prídavok do muštu má priaznivejší vplyv na aromatické a fenolické látky v šumivom víne ako prídavok do základného vína
- Prídavok do základného vína zachová vyššiu hladinu voľného SO₂ v šumivom víne



Exogénny prídavok glutatiónu

- Nariadenie Európskej Komisie č. 606/2009 z 10. júla 2009, ktorým sa ustanovujú určité podrobné pravidlá uplatňovania nariadenia Rady (ES) č. 479/2008, pokiaľ ide o kategórie vinárskych výrobkov, enologické postupy a uplatniteľné obmedzenia, glutatión nie je medzi povolenými prídavkami do muštu alebo vína
- Nariadenie povoľuje použitie preparátov z bunkových stien kvasiniek a to v množstve najviac 40 g.hl⁻¹
- OIV v Medzinárodnej zbierke enologických praktík a Medzinárodnom enologickom kódexe glutatión taktiež neuvádza ako povolené aditívum pri vinifikácii. Aktuálne sú v pripomienkovom konaní (etapa 5) návrhy štyroch rezolúcií týkajúcich sa glutatiónu, ktoré smerujú k hlasovaniu členských štátov



EUROPEAN
COMMISSION



Exogénny prídavok glutatiónu

- Najviac glutatiónu spomedzi povolených preparátov obsahujú kvasinkové lyzáty
- Použitie preparátov s glutatiónom má pozitívny vplyv na zachovanie aromatických látok vo víne počas skladovania, vhodné je preparáty pridať v prvej tretine alkoholickéj fermentácie



Záver

- Ucelený prehľad problematiky glutatiónu vo vinohradníctve a vinárstve
- Témy na výskum, je možné na ňu nadviazať aj v diplomovej práci s experimentom
 - Syntetizuje sa glutatión v listoch alebo aj v bobuliach hrozna?
 - Aký je cielene dosiahnuteľný interval hodnôt obsahu glutatiónu v hrozne?
 - Vysvetlenie vplyvu kmeňa kvasiniek.
 - Vysvetlenie vplyvu prídavkov glutatiónom obohatených enologických preparátov.
 - Vysvetlenie vplyvu hladín kyslíku počas vinifikácie na výslednú hladinu glutatiónu vo víne.
 - Význam glutatiónu pri malolaktickej fermentácii.
 - Rola glutatiónu ako prekurzoru sírovodíku pri zrení vína.
 - Ako a pri akých podmienkach je GSH vylučovaný von z bunky kvasinky?

Záver

Význam získaných vedomostí o možnosti použitia glutatiónu pre zvýšenie kvality vína stúpne, ak sa táto látka stane povoleným aditívom pri vinifikácii.



Ďakujem za pozornosť.