

# Význam glutatiónu pre kvalitu hrozna a vína

**Bakalárska práca**

Vedúci bakalárskej práce

**doc. Ing. Pavel Pavloušek, Ph.D.**

Vypracoval

**Ing. Michal Kacina**

Lednice 2015



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Ing. Michal Kacina**  
Studijní program: Zahradnické inženýrství  
Obor: Vinohradnictví a vinařství  
Název tématu: **Význam glutathionu pro kvalitu hroznů a vína**  
Rozsah práce: 30 stran

### Zásady pro vypracování:

1. Soustředte informace o obsahu a významu glutathionu v hroznech.
2. Soustředte informace o obsahu a významu glutathionu ve víně.
3. Zpracujte poznatky o vlivu agrotechnických zásahů ve vinici a enologických postupů ve vztahu k glutathionu.
4. Doporučte možnosti využití glutathionu v praxi.

### Seznam odborné literatury:

1. *Australian journal of grape and wine research*. ISSN 1322-7130.
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. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J M. a kol. *Handbook of enology : The microbiology of wine and vinifications. Volume 1.* 2. vyd. Chichester: John Wiley & Sons, 2005. 497 s. ISBN 0-470-01034-7.
4. *American Journal of Enology and Viticulture*. ISSN 0002-9254.

Datum zadání bakalářské práce: leden 2014

Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2015

L. S.

**Ing. Michal Kacina**  
Autor práce

**Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.**  
Vedoucí ústavu



**doc. Ing. Pavel Pavloušek, Ph.D.**  
Vedoucí práce


**doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.**  
Děkan ZF MENDELU

### Čestné prehlásenie

Prehlasujem, že som túto prácu: **Význam glutatiónu pre kvalitu hrozna a vína** vypracoval samostatne a všetky použité pramene a informácie sú uvedené v zozname použitej literatury.

Súhlasím, aby práca bola uložená v knižnici Zahradnícké fakulty Mendelovy univerzity v Brně a sprístupnená k študijným účelom.

V Lednici dňa ..... 20. 4. 2015 .....

Podpis .....  .....

## **Abstrakt**

Glutatión má dôležitú úlohu ako antioxidant pri oxidácii muštov bielych odrôd. Do istej miery obmedzuje hnednutie muštov, má ochranný efekt na aromatické látky a zabraňuje netypickému starnutiu vína. Je prekursorom niektorých aromatických volatilných thiolov. Jeho obsah v hrozne je ovplyvnený odrodou, ročníkom a zásobou živín v pôde. Jeho obsah v mušte ovplyvňuje vystavenie kyslíku, aktivita tyrosinázy, dĺžka predfermentačnej macerácie a podmienky lisovania. Jeho koncentrácia počas alcoholickej fermentácie kolíše. Glutatión má synergický efekt s oxidom siričitým na stabilitu vína a umožňuje zníženie jeho dávok. Cílené riadenie hladiny glutatiónu počas vinifikácie môže zvýšiť kvalitu výsledného vína a dĺžku jeho skladovateľnosti.

## **Kľúčové slová**

Glutatión, víno, hrozno, antioxidant.

## **Abstract**

Glutathione plays important role as an antioxidant during the oxidation of white grape musts. Up to certain level, it inhibits the browning of musts and exerts a protective effect on various aroma compounds during wine ageing. Glutathione is a precursor of some aromatic volatile thiols. Glutathione content in grape berries may vary according to cultivar, vintage and soil nutrients. Its concentration in the must is influenced by oxygen exposure, tyrosinase activity, grape skin maceration during the pre-fermentation period and pressing conditions. Its concentrations in wine are fluctuating during alcoholic fermentation. Application of glutathione together with sulfur dioxide shows synergic effect on wine stability permitting the use of lower sulfur dioxide doses. The judicious management of glutathione levels during the winemaking trial can higher the final wine quality and the length of its storage period.

## **Keywords**

Glutathione, wine, grapevine, antioxidant.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Cieľ práce</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Všeobecný popis glutatiónu</b>	<b>8</b>
3.1	Biochemické funkcie glutatiónu .....	9
3.2	Biosyntéza a transport glutatiónu .....	9
<b>4</b>	<b>Obsah a význam glutatiónu v hrozne</b>	<b>11</b>
4.1	Zmena obsahu glutatiónu počas zrenia hrozna.....	11
4.2	Zmena obsahu glutatiónu pri strese .....	13
4.3	Vplyv zelených prác na obsah glutatiónu v hrozne.....	14
<b>5</b>	<b>Obsah a význam glutatiónu vo víne</b>	<b>17</b>
5.1	Obsah glutatiónu vo víne.....	17
5.2	Výživový a oxidatívny stres kvasiniek .....	20
5.3	Antioxidačná aktivita glutatiónu .....	22
5.3.1	Enzymatická oxidácia .....	22
5.3.2	Neenzymatická oxidácia.....	24
5.4	Vplyv glutatiónu na aromatické látky vo víne.....	24
5.5	Netypické starnutie vína .....	27
5.6	Malolaktická fermentácia.....	27
5.7	Šumivé vína .....	27
<b>6</b>	<b>Exogénny prídavok glutatiónu</b>	<b>29</b>
6.1	Enologické preparáty obsahujúce glutatión .....	31
<b>7</b>	<b>Doporučené množnosti využitia glutatiónu v praxi</b>	<b>36</b>
<b>8</b>	<b>Záver</b>	<b>38</b>
<b>9</b>	<b>Zoznam použitej literatúry</b>	<b>39</b>

# 1 Úvod

Konkurencia medzi vinárstvami zintenzívňuje tlak na výrobu vysoko kvalitných vín. Vína vyrobené z bielych odrôd sú citlivé na oxidáciu a hnednutie, čo spôsobuje stratu charakteristickej arómy a rozvoj netypického starnutia vína. Vinárstvo môže získať náskok pred konkurenciou vďaka zvyšovaniu a udržaniu kvality vína. Zvýšenie obsahu glutatiónu vo víne môže pomôcť dosiahnuť túto výhodu, pretože chráni aromatické látky počas zrenia vína (volatilné thioly, estery a terpény), je prirodzený antioxidant, bráni rozvoju atypického starnutia vína a umožňuje znížiť dávky oxidu siričitého (KRITZINGER 2012). Glutatión má pozitívny vplyv hlavne na biele aromatické vína. Vo svete je ohľadne tejto problematiky najviac skúmaná odroda Sauvignon. My máme viacero ďalších aromatických odrôd, pre ktoré môžeme pozitíva využiť (Pálava, Devín, Milia, Muškát moravský a iné).

Na základe praktických pokusov boli identifikované faktory ovplyvňujúce obsah glutatiónu v hrozne (MAGGU et al. 2007) a preto by cieľom vinohradníkov malo byť prirodzené zvýšenie koncentrácie glutatiónu v dopestovanom hrozne uprednostnené pred pridávaním látky do muštu alebo vína. Hladina glutatiónu sa dá ovplyvňovať aj pri vinifikácii, čo má vplyv na kvalitu a životnosť vyrobeného vína. Kvasinky môžu počas alcoholickej fermentácie glutatión syntetizovať alebo spotrebúvať.

Niektorí dodávatelia enologických prípravkov ponúkajú zmesi výživy pre kvasinky alebo iné preparáty obsahujúce glutatión za účelom zachovania zvýšenia koncentrácie vytvorených aromatických látok vo víne. Prídavok glutatiónu do muštu alebo vína je v súčasnosti stále diskutovaný. Existujúce štúdie o prídavku glutatiónu sú orientované hlavne na ochranu pred oxidáciou tichého vína, menej na efekty prítomnosti GSH počas alcoholickej fermentácie alebo sekundárnej fermentácie pri výrobe šumivého vína tradičnou metódou (WEBBER et al. 2014).

Za posledné dekády bolo vyvinutých viacero spôsobov analytického stanovenia obsahu glutatiónu v mušte a víne. Väčšina z nich je však náročná na čas a laboratórne vybavenie. Väčšina taktisto zisťuje iba množstvo redukovanej formy glutatiónu (KRITZINGER 2012). Je preto potrebné vynájsť rýchlu metódu zistenia obsahu glutatiónu a to jeho redukovanej aj oxidovanej formy, aplikovateľnú na veľké množstvo vzoriek s dostatočnou presnosťou.

## 2 Cieľ práce

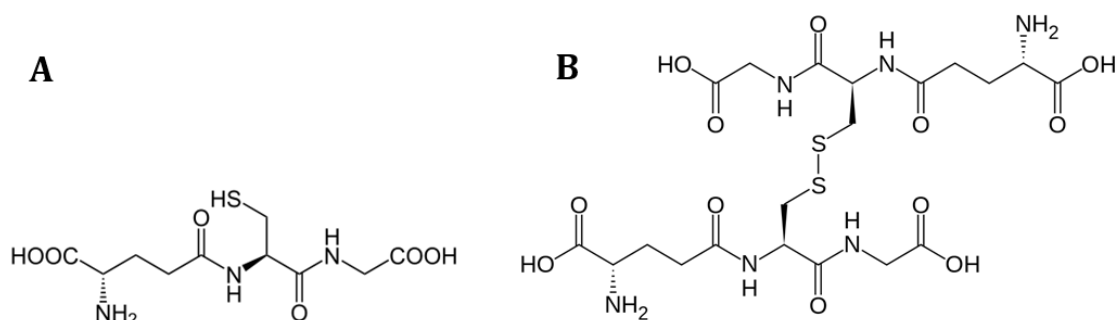
Cieľom tejto práce je vytvoriť teoretický základ pre problematiku glutatiónu vo vinohradníctve a vinárstve, nakoľko v českom alebo slovenskom jazyku nie je dostatok dostupnej literatúry k tejto téme a ide o dôležitú látku v procese zvyšovania kvality a tým aj konkurencieschopnosti našich vín. V tejto problematike ešte stále existuje veľa otázok, ktoré si vyžadujú ďalší praktický výskum. Tieto otvorené témy uvádzam v závere práce.

Cieľ práce je definovaný nasledovne:

- 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.

### 3 Všeobecný popis glutatiónu

Glutatión je tripeptid (látka zložená z troch aminokyselín). Má význam pri respirácii buniek cicavcov aj rastlín, chráni bunky svojou redukciou pred peroxidom vodíka, čo je toxický vedľajší produkt množstva metabolických reakcií, ktorý rozloží na peroxid a vodu. Služi ako súčasť viacerých enzýmov (ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA ONLINE 2014).



Obr. 1 Molekulárna štruktúra (A) glutatiónu (GSH) a (B) glutatión disulfidu (GSSG)  
Zdroj: WIKIPEDIA 2014.

Glutatión tvorí L-glutamát, L-cysteín a L-glycín. Je to najviac sa vyskytujúci neproteínový vnútrobunkový thiol v koncentráciách  $0,2 - 10 \text{ mol.m}^{-3}$ . V bunke sa vyskytuje vo svojej redukovanej (GSH) alebo oxidovanej forme (glutatión disulfid GSSG) (Obr. 1). Viac ako 90% glutatiónu v bunke je v redukovanej forme. GSSG vzniká oxidáciou GSH. Spätná redukcia GSSG na GSH sa deje pri spotrebe NADPH pomocou glutatión reduktázy (KRITZINGER et al. 2013a). Tab. 1 obsahuje niektoré chemické vlastnosti glutatiónu.

Je používaný vo farmaceutickom priemysle a má potenciál byť použitý aj v potravinárstve a kozmetickom priemysle, avšak jeho prídavok do muštu počas vinifikácie nie je povolený súčasnými zákonmi (UGLIANO et al. 2011).



Tab. 1 Chemické vlastnosti glutatiónu.

<b>Molekulová hmotnosť</b>	307,32348 g.mol <sup>-1</sup>
<b>Teplota topenia</b>	195°C
<b>Rozpustnosť</b>	Rozpustný vo vode, ale nie v nepolárnych rozpúšťadlách
<b>Toxicita</b>	ORL-MUS LD <sub>50</sub> 5000 mg.kg <sup>-1</sup>

Zdroj: U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE 2014.

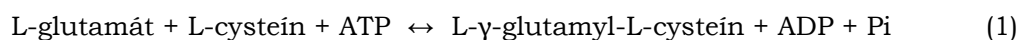
### 3.1 Biochemické funkcie glutatiónu

Hlavné funkcie GSH sú antioxidant, posilňovač imunity a detoxikant (PASTORE et al. 2003). V tkanive je GSH kľúčový pri bioredukcii, ochrane voči oxidatívne mu stresu, detoxifikácii xenobiotík a endogénnych toxických metabolitov, enzymatickej aktivite a metabolizme síry a dusíka (PENNINCKX 2002).

Glutatión S-konjugáty sú súčasťou detoxifikačných systémov živých organizmov. Enzým glutatión S-transferáza (GST) katalyzuje konjugáciu GSH s toxickými látkami. GST nie je funkčná bez stáleho prísunu GSH (VUILLEUMIER 1997).

### 3.2 Biosyntéza a transport glutatiónu

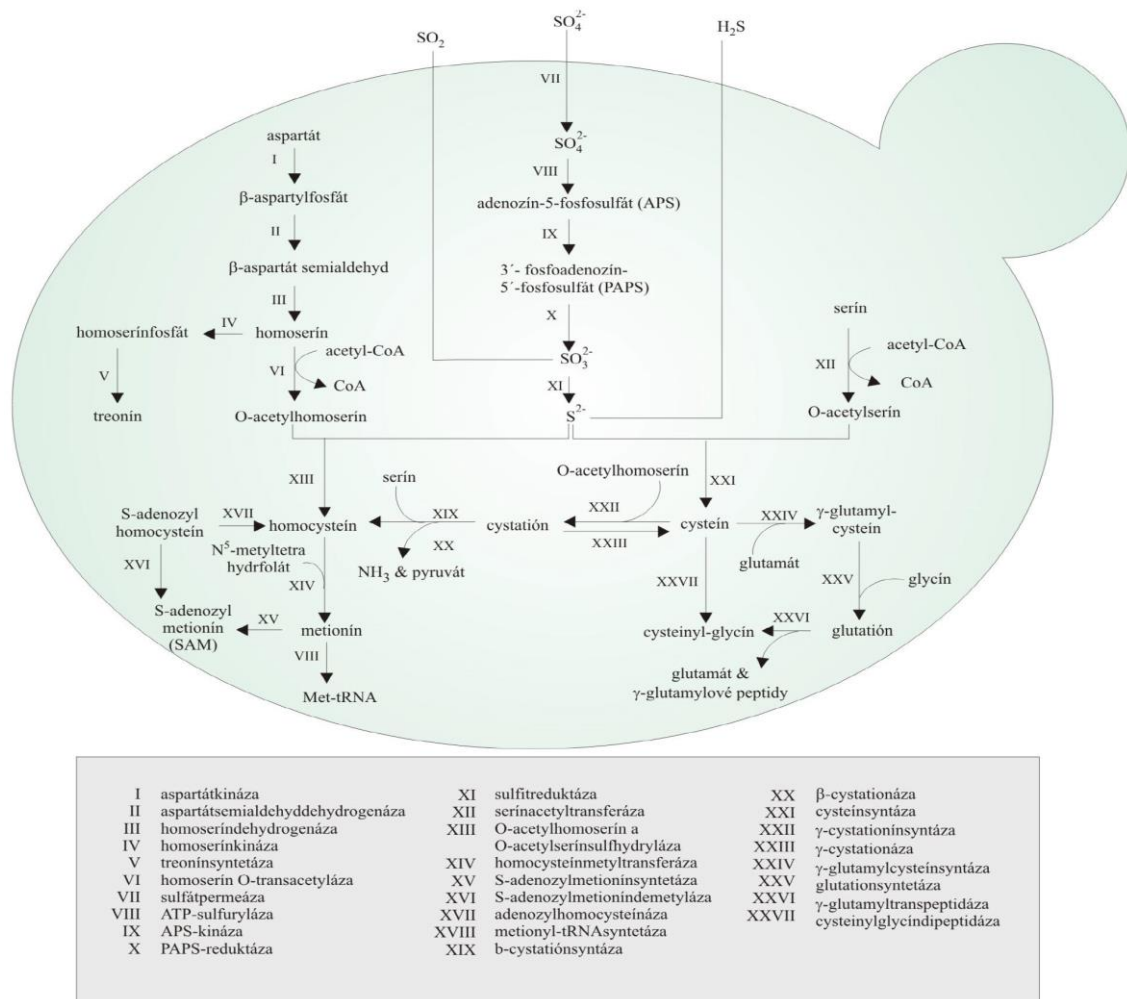
Biosyntéza glutatiónu prebieha v cytosole v dvoch náväzných reakciách. V prvej je syntetizovaný  $\gamma$ -glutamylcysteín z L-glutamátu a cysteínu prostredníctvom enzýmu  $\gamma$ -glutamylcysteín syntetáza. V druhej reakcii je pridaný glycín ku  $\gamma$ -glutamylcysteínu prostredníctvom enzýmu glutatión syntetáza. Obidve reakcie sa dejú za spotreby ATP (WIKIPEDIA 2014).



Glutatión môže byť navyše prijímaný aj z vonkajšieho prostredia bunky do cytoplazmy a vakuoly, kde sa degraduje za vzniku  $\gamma$ -glutamyllovej skupiny (tá sa prenáša na vhodné peptidy a aminokyseliny) a cysteínglycínu, ktorý sa ďalej degraduje na jeho aminokyseliny, cysteín a glycín (PENNINCKX 2002).

Rast kvasiniek a ich metabolizmus je podmienený dostatkom sírnych aminokyselín, ako sú cysteín, metionín, S-adenozylmetionín a glutatión. Ak tieto látky vo výžive kvasiniek chýbajú, bunka si ich musí syntetizovať z anorganických

sírnych komponentov (sírany, siričitany z muštu). Sírany kvasinka redukuje na sulfidy a tie sú zabudované do štruktúry aminokyselinových prekursorov *O*-acetylserínu a *O*-acetylhomoserínu, čo dáva vznik cysteínu a homocysteínu, ktorý ja ďalej transformovaný na metionín (FURDÍKOVÁ a MALÍK 2007). Schéma sírneho metabolizmu vinných kvasiniek je na Obr. 2.



Obr. 2 Metabolizmus síry v kvasinke.  
Zdroj: SWIEGERS et al. 2005.

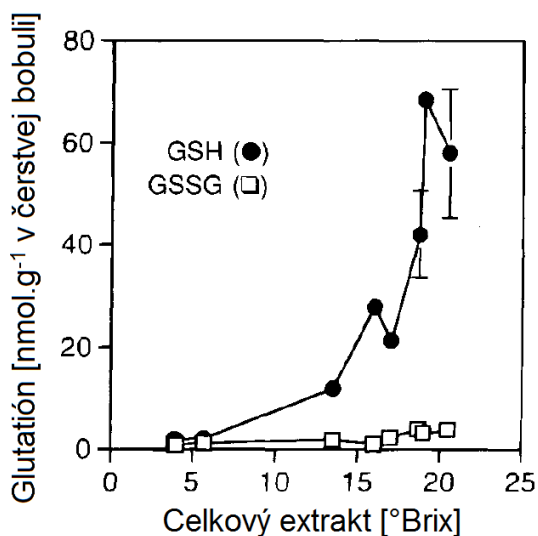
## 4 Obsah a význam glutatiónu v hrozne

Biosyntéza GSH je rovnaká pre všetky organizmy, ktoré ho obsahujú. Deje sa v dvoch náväzných reakciách popísaných v kapitole 3.2. Pre obsah glutamátu je potrebná asimilácia dusíka z pôdy. Pre cysteín je to síra (sírany). Pre vznik glycínu je potrebná fotorespirácia. Zvýšená hladina cysteínu pozitívne ovplyvňuje hladinu GSH. Obsah GSH v listoch rastlín je vyšší na oslnených listoch, nakoľko biosyntéza glycínu vyžaduje svetlo. Tvorba GSH bola zistená aj v koreňoch rastlín a je závislá na vývojovom štádiu jedinca a obsahu ťazkých kovov a xenobiotík v pôde (NOCTOR a FOYER 1998).

Klimatické podmienky podmieňujúce zrenie hrozna výrazne ovplyvňujú hladinu GSH v hrozne (PONS et al. 2015). Obsah glutatiónu v hrozne je v rozmedzí 56-372  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$  (17-114  $\text{mg.kg}^{-1}$ ) v závislosti od odrody, ročníka, polohy vinohradu a použitej agrotechniky (CHEYNIER et al. 1989). GSH je syntetizovaný v cytosole a chloroplastoch rastlinných buniek, ale mechanizmus jeho akumulácie v hrozne ešte nebol objasnený (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006). Rozdelenie GSH v bobuli je 51% v dužine a 40% v šupke, čo môže byť využité pri predfermentačnej macerácii (PONS et al. 2015).

### 4.1 Zmena obsahu glutatiónu počas zrenia hrozna

Obsah GSH sa zvyšuje na začiatku dozrievania bobúľ *Vitis vinifera*. Tento nárast bol zaznamenaný pre biele, modré, semenné aj bezsemenné odrody. Silná korelácia medzi akumuláciou GSH a rozpustných látok pretrváva do doby, kedy celkový extrakt v bobuli dosiahne 16 °Brix, odkedy hladina GSH zostáva stabilná (ADAMS a LIYANAGE 1993) a viac ako 90% celkového glutatiónu je v GSH forme (Obr. 3) (OKUDA a YOKOTSUKA 1999). Hladina GSH v bobuli rastie spolu s curnatosťou, ale neexistuje vzťah s priemerom bobule alebo expozíciou strapca (ŠUKLJE et al. 2012).

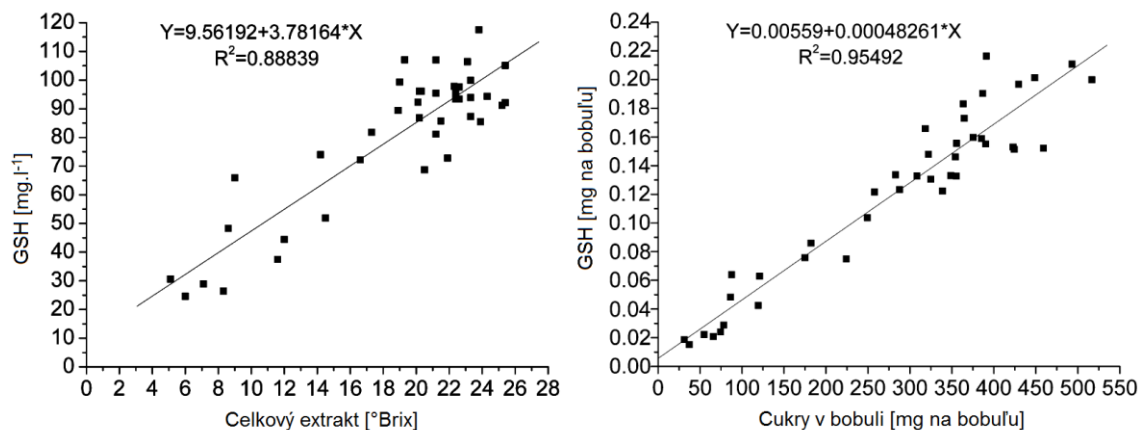


Obr. 3 Zmeny koncentrácie GSH a GSSG počas zrenia hrozna odrody Cabernet Sauvignon v závislosti na obsahu celkového extraktu v mušte.

Zdroj: OKUDA a YOKOTSUKA 1999.

V bielych odrodách sa zvyšovanie hladiny GSH deje na začiatku akumulácie rozpustných látok, čo sa zhoduje so začiatkom druhej rastovej fázy bobule. V modrých odrodách sa nárast obsahu GSH deje počas začiatku vyfarbovania. Akumulácia GSH v bobuli je všeobecná vlastnosť dozrievania bobule (ADAMS a LIYANAGE 1993).

Štúdium génovej expresie na začiatku zrenia bobule ukázalo, že GST (viď kapitola 3.1) preukazuje expresiu rovnakých génov ako enzýmy zodpovedné za akumuláciu antokyanov, ktoré sú úzko spojené s akumuláciou cukrov (TERRIER et al. 2005). To vysvetľuje náhly nárast koncentrácie GSH po zamäkaní. Bola pozorovaná silná pozitívna korelácia medzi koncentraciami GSH a celkovým extraktom a takisto medzi koncentraciami GSH a cukru v bobuli (Obr. 4) (ŠUKLJE et al. 2012).



Obr. 4 Vzťah medzi koncentraciami GSH a celkovým extraktom v mušte a medzi obsahom GSH a cukrov v bobuľi.

Zdroj: ŠUKLJE et al. 2012.

Akumulácia GSH v bobuliach na začiatku dozrievania bobúľ je vďaka floémovému toku z produktívnych listov, kde sa koncentrácia GSH znižuje. Ide o prenos síry v redukovanej forme z listu do bobule. Obsah GSH v bobuliach je závislý na množstve dostupného dusíka, vyjadriteľnom ako kvasinkami asimilovateľný dusík (YAN) v mušte. Hnojenie dusíkom počas násady bobúľ vedie k muštu so šesťkrát vyšším obsahom YAN a tým pádom vyšším obsahom cysteín konjugátových prekurzorov a GSH (CHONÉ et al. 2006). To znamená, že obsah GSH v mušte z hrozna dopestovaného pri nedostatku dusíka je výrazne nižší ako pri aplikácii hnojiva s obsahom dusíka po odkvitnutí. Rovnaký účinok má aj aplikácia listových hnojív s obsahom dusíka (LACROUX et al. 2008).

## 4.2 Zmena obsahu glutatiónu pri strese

Zásoba vodou kra tiež vplýva na akumuláciu glutatiónu v hrozne. Mierny nedostatok vody je priaznivejší pre jeho akumuláciu ako prudký stres z nedostatku vlhky. Predčasné starnutie vína bielych odrôd je často spojené so stavom vinohradu a to hlavne pri nedostatku dusíka a prudkom strese z nedostatku vlhky (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006).

Zmena citlivosti rastlín na chlad súvisí s biochemickými zmenami. Zníženie hladiny antioxidantov (kyselina askorbová, flavonoidy a GSH) koreluje so stratou tolerancie ku chladu a mrazu (PUKACKI a KAMIŇSKA-ROŽEK 2013).

Vonkajší stres (chlad, prehriatie, vodný deficit a UV-C žiarenie) zvyšuje biosyntézu Glut-3MH a Cys-3MH, prekurzorov vonných thiolov v hrozne (viď

kapitola 5.4). Pri strese sa degradujú polynenasýtené mastné kyseliny a tvoria deriváty, medzi ktorými je hexanal a na neho konjugovaný GSH. Bobule vystavené UV-C žiareniu tvoria GSH na detoxifikáciu vzniknutých derivátov (KOBAYASHI et al. 2011).

Bobule hrozna napadnuté plesňou *Botrytis cinerea* vykazujú zvýšenie tvorby génov, ktoré sú zahrnuté v oxidatívnych stresových reakciách, medzi ktoré patrí GST (viď kapitola 3.1) (AGUDELO-ROMERO et al. 2015). Hypersenzitívna reakcia na napadnutie plesňou je však výhodná pre nekrotrofné patogény akým je aj *Botrytis cinerea*. Bunky napadnutej bobule produkujú reaktívne formy kyslíka, čo napomáha plesni kolonizovať tkanivo a preto antioxidanty znižujú plesňové infekcie (ASSELBERGH et al. 2007).

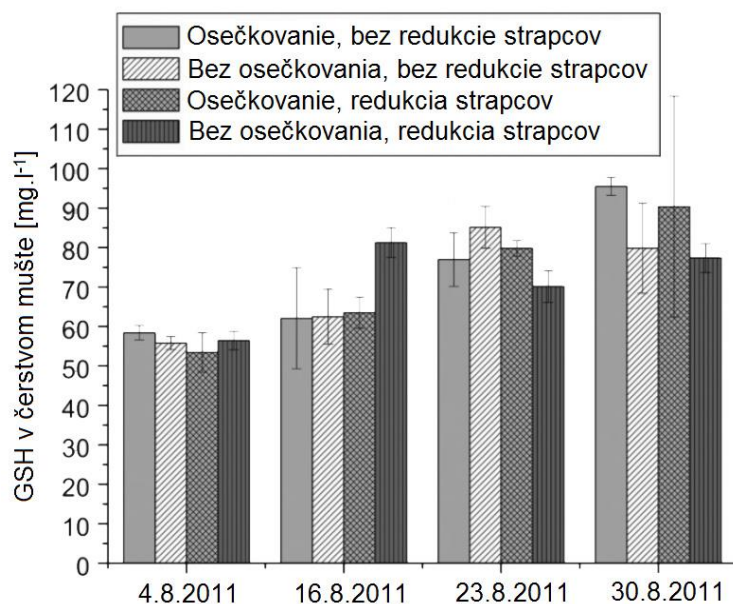
Listy z kra napadnutého vírusovou vejárovitosťou (GFLV) obsahujú vyššiu hladinu GSH v priebehu zrenia hrozna. Vírus v rastline spôsobuje zvýšenú hladinu reaktívnych foriem kyslíka, čo podmieňuje zvýšenú tvorbu GSH (viď kapitola 5.2). To umožňuje rastline vyššiu toleranciu voči vírusu (SGHERRI et al. 2013).

Pri napadnutí chorobou ESCA hladina GSH v listoch klesá ešte pred objavením sa symptómov. S postupom choroby sa spotreba GSH v listoch zvyšuje. Pomer medzi GSSG a celkovým glutatiónom v listoch mierne klesá na začiatku ochorenia a výrazne stúpa s jeho postupom. Aktivita GST je najvyššia v rannom štádiu infekcie a klesá s objavením sa symptómov na listoch. Tieto charakteristiky môžu byť použité ako ranné indikátory ochorenia ESCA (VALTAUD et al. 2009).

### 4.3 Vplyv zelených prác na obsah glutatiónu v hrozne

Šuklje et al. 2013 urobili experiment, či pomer plochy listovej steny k úrode ovplyvňuje koncentrácie sekundárnych metabolitov vrátane GSH v hrozne odrody Sauvignon ročníku 2011 v Slovinsku. Porovnávali úrodu z krov s rôzne vykonanými zelenými prácami (osečkovanie, redukcia strapcov a ich kombinácie). Pomer plochy listovej steny k úrode bol v intervale 0,63 až 1,85 m<sup>2</sup>.kg<sup>-1</sup>. Koncentrácia GSH v čerstvom mušte sa počas zrenia hrozna pohybovala medzi 53 až 95 mg.l<sup>-1</sup> (Obr. 5). GSH sa hromadil v bobuli podobne ako cukry, jeho koncentrácia rástla so zrelosťou. V dobe zamäkania (4.8.2011) neboli zistené podstatné rozdiely v jeho obsahu medzi jednotlivými prevedeniami zelených prác. V druhom meraní (16.8.2011) sa zistila vyššia koncentrácia na kroch, kde neboli osečkované letorasty a boli zredukované strapce hrozna. Pri treťom meraní (23.8.2011) mali najvyššiu hladinu GSH kry, kde neboli osečkované letorasty

a neboli zredukované strapce hrozna. Zdá sa, že osečkovanie letorastov zbrzdilo syntézu GSH pri prvom meraní. Pri zbere (30.8.2011) sa nepreukázal vplyv ani redukcie strapcov hrozna, ani osečkovania na obsah GSH v mušte. Kry, kde boli osečkované letorasty a nezávisle na redukcii strapcov hrozna, preukázali postupný nárast koncentrácie GSH počas zrenia a pri zbere dosiahli jeho výrazne vyššie koncentrácie (ŠUKLJE et al. 2013).



Obr. 5 Vývoj koncentrácie GSH v čerstvom mušte počas zrenia hrozna v závislosti na rôznom prevedení zelených prác.  
Zdroj: Šuklje et al. 2013.

Experiment pokračoval analýzou muštu získaného pri zbere (30.8.2011) pred inokuláciou kvasinkami, teda po macerácii ( $50 \text{ mg.l}^{-1}$  oxidu siričitého, tri hodiny studenej macerácie) a vylisovaní. Hodnoty koncentrácie GSH klesli (Tab. 2), čo sa očakávalo kvôli oxidácii počas macerácie a lisovania. Hodnoty S-glutationyl-2-trans-kaftarovej kyseliny (GRP, vid' kapitola 5.3.1) sa pohybovali od  $32,5$  do  $36,2 \text{ mg.l}^{-1}$ . Výrazne vyššia koncentrácia GSH v mušte po spracovaní sa zistila vo variante bez osečkovania a s redukciou strapcov hrozna. Koncentrácie v muštach zvyšných kombinácií prevedených zelených prác sa výrazne nelíšili. Analyzoval sa aj obsah GSH vo víne po štyroch mesiacoch po nafl'aškovaní. Pokles koncentrácie bol vo všetkých variantoch veľký a to o 77 až 82%.

Tab. 2 Vplyv rôzne prevedených zelených prác na koncentrácie vybraných látok v mušte po macerácii a lisovaní a vo víne 4 mesiace po nafl'aškovaní.

Zelené práce	Mušt pred inokuláciou kvasinkami					Víno
	Celkový extrakt [°Brix]	Titrovateľné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	pH	GRP [mg.l <sup>-1</sup> ]	GSH [mg.l <sup>-1</sup> ]	GSH [mg.l <sup>-1</sup> ]
Osečkovanie, bez redukcie strapcov	20,7	6,3	3,39	35,8	42,1	8,7
Bez osečkovania, bez redukcie strapcov	21,4	6,0	3,37	32,5	38,1	7,4
Osečkovanie, redukcia strapcov	21,4	6,3	3,41	36,2	41,6	7,4
Bez osečkovania, redukcia strapcov	22,3	6,1	3,39	35,1	50,6	11,7

Zdroj: ŠUKLJE et al. 2013.

Vo víne z muštu s najvyššou koncentráciou GSH po macerácii a lisovaní sa sensoricky zistilo, že má najintenzívnejšiu tropickú arómu. Toto víno malo aj najvyššiu koncentráciu volatilného thiolu 3MH (vid' kapitola 5.4), čo poverdzuje rolu GSH ako jeho pro-prekurzoru. Takisto sa toto víno pri sensorickej skúške celkovej kvality ohodnotilo ako najlepšie. Väčší pomer listovej plochy k úrode hrozna má teda výrazný vplyv na koncentráciu GSH v mušte a tropický prejav odrody Sauvignon (ŠUKLJE et al. 2013).

Odlistenie v zóne strapcov nemá výrazný vplyv na koncentráciu GSH v bubuli počas zrenia (ŠUKLJE et al. 2012).



## 5 Obsah a význam glutatiónu vo víne

Thiolová skupina cysteínu je zodpovedná za antioxidačné biochemické vlastnosti glutatiónu, vďaka čomu má GSH hlavnú úlohu pri oxidácii muštu z bielych odrôd (LAVIGNE et al. 2007). Glutatión má vo víne a mušte ochranný efekt na viacero žiadúcich vôní, obmedzuje tvorbu prípachov a do istej miery aj hnednúcich pigmentov (KRITZINGER 2012).

Medzi produkty metabolizmu kvasiniek patria nie len etanol, glycerol, dioly a vyššie alkoholy, ale aj ďalšie látky ako kyseliny, estery, aldehydy, ketóny a sírne zlúčeniny. GSH ovplyvňuje tvorbu vyšších alkoholov, kyselín, esterov a acetátov a to aj v šumivých vínach (WEBBER et al. 2014).

Napriek faktu, že oxid siričitý je veľmi efektívny pri ochrane vína proti oxidácii a mikrobiálnej nákaze, existuje rastúci trend znižovania jeho dávok do vína kvôli jeho alergickým vlastnostiam a zdravotným následkom. GSH a oxid siričitý majú synergický efekt na zvýšenie spotreby kyslíka vo víne (FRACASSETTI et al. 2013). Pridanie GSH umožňuje zníženie dávok oxidu siričitého do vína a poskytuje vyššiu ochranu aromatických látok vo víne v porovnaní s oxidom siričitým (ROUSSIS et al. 2008). GSH sa môže naviazať na aldehydové zlúčeniny rovnako ako oxid siričitý (SONNI et al. 2011).

### 5.1 Obsah glutatiónu vo víne

Glutatión môže byť vo víne prítomný vo svojej redukovanej (GSH) alebo oxidovanej disulfidovej forme (glutatión disulfid GSSG). Hodnota pH vo víne však podporuje výskyt GSH. Celkový obsah glutatiónu vo víne je lepším indikátorom antioxidačného potenciálu glutatiónu ako obsah iba jeho GSH formy (WEBBER et al. 2014).

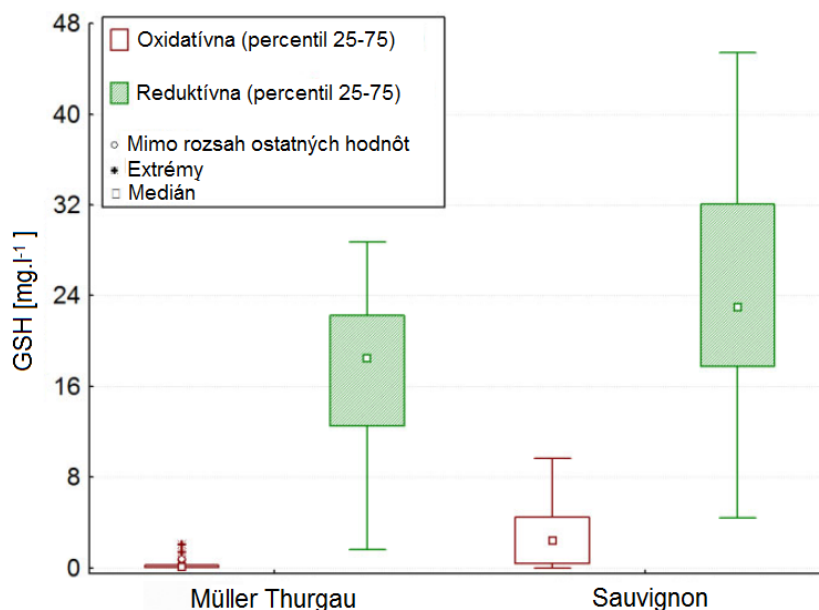
Koncentrácia GSH v mušte je v rozsahu od nedetekovateľných koncentrácií až po viac ako 100 mg.l<sup>-1</sup> a je ovplyvnená viacerými faktormi ako sú vystavenie kyslíku, aktivita tyrosinázy, dĺžka predfermentačnej macerácie a podmienky počas lisovania (MAGGU et al. 2007).

Metódy na zistenie obsahu glutatiónu v mušte a víne sú založené na vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografii (HPLC, CE a UPLC) s použitím rôznych detektorov. Na správne stanovenie GSH v mušte alebo víne je nevyhnutná deaktivácia oxidázových enzýmov a prítomnosť inertnej atmosféry, nakoľko je

GSH rýchlo zoxidovateľný. Oxid siričitý deaktivuje oxidázové enzýmy, ale nie je vhodné ho použiť pri stanovení GSH prostredníctvom HPLC-FLD (s fluorescenčnou derivatizáciou). Efektívna je príprava vzoriek v inertnej atmosfére pomocou studeného dezoxidovaného metanolu, kedy je inhibovaná oxidácia a spotreba GSH je zredukovaná. Táto metóda ukázala dobrú opakovateľnosť, reprodukovateľnosť a linearitu pre stanovenie GSH v mušte alebo víne. Obsah GSH je stabilný v mušte vyrobenom z hrozna uskladneného najviac desať dní pri teplote 4°C (JANEŠ et al. 2010).

V závislosti na kvalite hrozna, zvýšenie hladiny GSH v mušte počas predfermentačnej macerácie sa pohybuje od 2 do 55% a to v prvých dvoch hodinách macerácie (PONS et al. 2015).

LARCHER et al. 2013 porovnávali vplyv oxidatívnej a reduktívnej predfermentačnej macerácie na obsah GSH v muštach odrôd Müller Thurgau (19 muštov) a Sauvignon (32 muštov) ročníku 2012 z talianskej oblasti Trentino (Obr. 6). Po oxidatívnej macerácii obsahovali mušty odrody Müller Thurgau iba zanedbateľné množstvo GSH a menej ako 10 mg.l<sup>-1</sup> odrody Sauvignon. Mušty z reduktívnej macerácie obsahovali 1,64 – 28,7 mg.l<sup>-1</sup> (Müller Thurgau) a 4,44 – 45,4 mg.l<sup>-1</sup> GSH (Sauvignon).

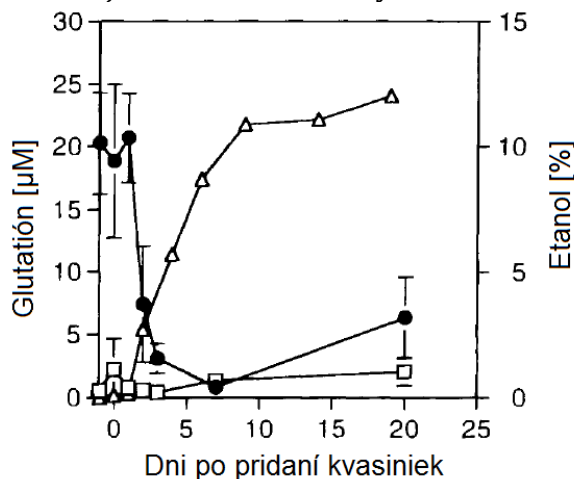


Obr. 6 Porovnanie koncentrácia GSH v muštach odrôd Müller Thurgau a Sauvignon po oxidatívnej a reduktívnej predfermentačnej macerácii.

Zdroj: LARCHER et al. 2013.

Koncentrácia GSH vo výslednom víne môže byť nižšia, rovnaká alebo vyššia ako v mušte a to v hodnotách od nedetekovateľne nízkych až po 70 mg.l<sup>-1</sup>

(KRITZINGER 2012), v priemere  $12,5 \text{ mg.l}^{-1}$  (JANEŠ et al. 2010). Koncentrácia GSSG je počas alcoholickej fermentácie nízka a to menej ako  $2 \text{ mg.l}^{-1}$  (KRITZINGER 2012). OKUDA a YOKOTSUKA 1999 skúmali vývoj koncentrácie GSH, GSSG a etanolu počas alcoholickej fermentácie odrody Cabernet Sauvignon (Obr. 7).



Obr. 7 Zmeny koncentrácie etanolu, GSH a GSSG počas alcoholickej fermentácie odrody Cabernet Sauvignon.

Zdroj: OKUDA a YOKOTSUKA 1999.

Lisovanie rmutu v dusíkovej atmosfére je vhodnejšie pre zachovanie vyššej hladiny GSH (PONS et al. 2015).

Finálna koncentrácia GSH vo víne môže byť ovplyvnená metabolizmom kvasiniek *S. cerevisiae* počas alcoholickej fermentácie (stres z nedostatku dusíka alebo síry, oxidatívny stres, detoxifikácia ťažkých kovov). Predpokladá sa, že GSH, ako vnútrobunková zložka, je uvoľňovaný autolýzou kvasiniek a môže byť prijímaný aj naopak z mimobunkového priestoru do bunky. To môže viesť k fluktujúcim koncentráciám GSH počas fermentácie (KRITZINGER 2012). Bol objavený transportér GSH sekrécie v *Saccharomyces cerevisiae*, čo znamená, že kvasinky môžu GSH aj aktívne vylučovať (DHAOUI et al. 2011). Koncentrácia GSH v kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae* dosahuje hodnoty až do 10 mM a hmotnostný podiel GSH v sušine kvasiniek 0,5 až 1% (PENNINCKX 2002).

Experiment so syntetickým vínom pri použití dvadsiatich komerčných kmeňov kvasiniek dokázal výrazné rozdiely hladiny GSH v prekvasenom médiu. Pri použití týchto kmeňov kvasiniek v mušte sa výsledky niekedy nezhodovali. Dôvody rozdielnej koncentrácie GSH vo výslednom víne sú stále nevysvetlené, ale pravdepodobne je to kvôli metabolickej komplexite muštu. Mnoho metabolitov je z kvasiniek pri alcoholickej fermentácii buď prijatých alebo uvoľnených, v závislosti na komplexných, nelineárnych interakciách medzi ich začiatočným

obsahom v mušte, genetickej výbave kvasiniek a množstve vlastností okolia, ktoré ovplyvňujú rast kvasiniek ako sú teplota, pH a osmotický tlak (KRITZINGER et al. 2013a).

Vína vyrobené reduktívnou technológiou (menej ako 0,3 mg.l<sup>-1</sup> rozpusteného kyslíka prijatého počas lisovania) obsahujú viac GSH v mušte aj hotovom víne ako pri oxidatívnej metóde. Hrozno z mechanizovaného zberu, pri ktorom je rozpustené vyššie množstvo kyslíka, vykazuje nižšie hodnoty GSH v mušte (DU TOIT et al. 2007). Samotok obsahuje viac GSH v porovnaní s lisovanými frakciami (MAGGU et al. 2007). Pri zrení vína v sude klesá hladina GSH vo víne pomalšie, keď je ponechané na jemných kvasničných kaloch. To je zapríčinené redukčným potenciálom kvasiniek, ktorý zabraňuje oxidácii GSH. Spotreba GSH vo víne je rýchlejšia, ak vyčírené víno zrie v nových sudoch, kde je oxidačný efekt silnejší vďaka čerstvému drevu (LAVIGNE et al. 2007). Toto zistenie je v protiklade s experimentom KRITZINGER et al. 2013c, ktorí došli k záveru, že vplyv kvasničných kalov na zachovanie GSH vo víne počas zrenia je zanedbateľný a že GSH uvoľnený autolýzou kvasiniek je nepravdepodobný.

Vína exponované nižšej hladine kyslíku počas zrenia vo fľaši, preukazujú vyššiu koncentráciu GSH v porovnaní s vínami vystavenými vyšším hladinám kyslíka (UGLIANO et al. 2011).

Obsah GSH klesá počas zrenia vína vo fľaši, ale vína zrejúce na jemných kvasničných kaloch udržujú vyššiu hladinu GSH (UGLIANO et al. 2011). Obsah GSH vo víne významne koreluje s obsahom celkového asimilovateľného dusíka v mušte (PARK et al. 2000).

To znamená, že vývoj GSH počas tvorby vína sa môže výrazne meniť a jeho koncentrácia môže byť ovplyvňovaná vinárom obmedzovaním oxidácie počas celej vinifikácie, zrenia a skladovania vína (KRITZINGER 2012).

## 5.2 Výživový a oxidatívny stres kvasiniek

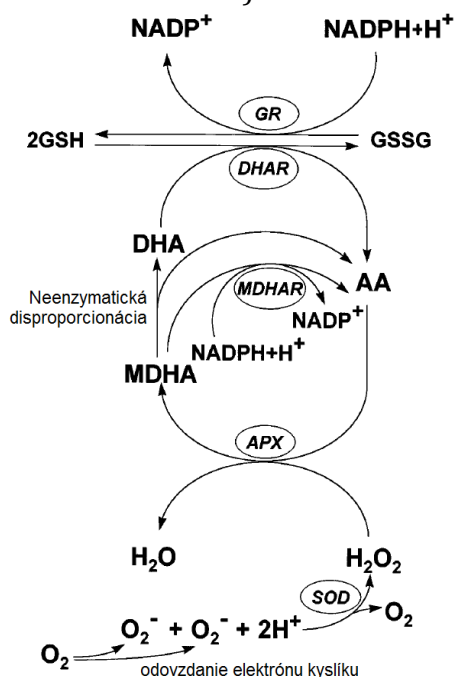
Glutatión je dôležitý metabolit pre rozmnožovanie kvasiniek počas fermentácie a je potenciálnym zdrojom dusíka a síry. Je zahrnutý v množstve stresových mechanizmov *Saccharomyces cerevisiae* a taktiež môže mať rolu pri udržiavaní základných bunkových funkcií ako napríklad štruktúrnej identity (WEBBER et al. 2014).

*Saccharomyces cerevisiae* používajú metionín, cysteín alebo GSH ako výhradný zdroj síry (ONO et al. 1988). GSH je syntetizovaný z cysteínu a pri jeho degradácii

umožňuje opätovný vznik cysteínu. Slúži ako zásobník cysteínu a teda síry v bunke kvasinky. 90% GSH poolu môže slúžiť ako zdroj endogénnej síry v prípade jej nedostatku (ELSKENS et al. 1991).

Glutatión slúži aj ako zásobáreň dusíka. Pri jeho nedostatku v bunke kvasinky sa viac ako 90% GSH presunie do vakuoly, kde sa z neho spotrebuje maximálne 90%. GSH teda slúži aj ako zásobná látka, ktorá sa mobilizuje do vakuoly počas nedostatku. Tu sa hydrolyzuje pre získanie aminokyselín, L-glutamínu, L-cysteínu a glycínu (PENNINCKX 2002).

Aeróbnymi organizmami trpia oxidatívnym stresom spôsobeným reaktívnymi formami kyslíka (superoxid, peroxid vodíka a hydroxylový radikál) a preto musí byť ich hladina udržiavaná prostredníctvom antioxidantného systému (ŠTÍPEK 2000). GSH je dôležitou ochrannou molekulou voči oxidatívnemu poškodeniu. S reaktívnymi formami kyslíka reaguje neenzymaticky, je priamo zoxidovaný na GSSG (WIKIPEDIA 2014). Odbúranie peroxidu vodíka sériou reakcií je známe ako askorbát-glutatiónový cyklus (Obr. 8). Askorbát a GSH sa pri tomto cykle nespotrebovávajú (NOCTOR a FOYER 1998).



Obr. 8 Askorbát-glutatiónový cyklus, kde GR = glutatión reduktáza, DHAR = dehydroaskorbát reduktáza, MDHAR = monodehydroaskorbát reduktáza, APX = askorbát peroxidáza.  
Zdroj: NOCTOR a FOYER 1998.

GSH môže byť konjugovaný aj na xenobiotiká a ťažké kovy reakciou katalyzovanou glutatión S-transferázou ( $\text{GSH} + \text{RX} \rightarrow \text{GS-X} + \text{RH}$ ). Glutatión S-konjugáty sú následne vylúčené do vakuoly bunky (LI et al. 1996).

## 5.3 Antioxidačná aktivita glutatiónu

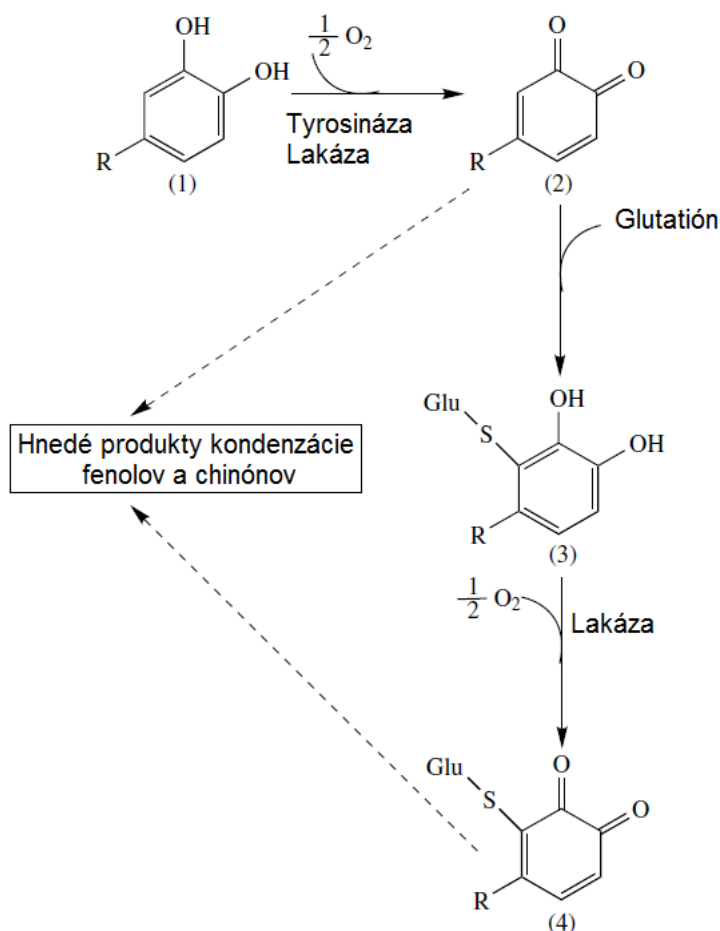
Hnednutie ako oxidatívny proces zhoršujúci senzorické vlastnosti vína môže byť výsledkom enzymatickej oxidácie, ktorá sa deje v mušte, alebo neenzymatickej oxidácie, ktorá sa deje počas zrenia vína v čase (OLIVEIRA et al. 2011).

### 5.3.1 Enzymatická oxidácia

Enzymatická aktivita v muštach bielych odrôd prednostne oxiduje hydroxyškoricové kyseliny a ich estery s kyselinou vínnou (kyselina kaftarová a kumarová), hlavné fenolické zlúčeniny dužiny bobule. Chinóny vzniknuté z kyseliny kaftarovej aktivitou lakázy sú nestabilné a náchylné vstúpiť do jednej z dvoch reakcií (Obr. 9). V prvej reakcii tieto veľmi reaktívne chinóny môžu kondenzovať s inými fenolickými zlúčeninami (flavonoidmi) za vzniku polymerizovaných produktov (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006). Ich farba je žltá až hnedá v závislosti na stupni ich kondenzácie (SINGLETON 1987). Chinóny sú taktiež náchylné reagovať so silne redukujúcou molekulou akou je GSH. Táto reakcia produkuje bezfarebný derivát, S-glutathionyl-2-trans-kaftarová kyselina, známy ako Grape Reaction Product (GRP) (SALGUES et al. 1986). Tento derivát nie je oxidovateľný tyrosinázou a farba muštu sa tak nemení. Hnednutie muštu bielych odrôd je teda závislé na koncentrácii glutatiónu. Tyrosináza, oxidáza zo zdravého hrozna, je aktívna ale nestabilná pri pH muštu, optimum jej aktivity je pri pH 4,75. Teploty nad 55°C a prídavok oxidu siričitého viac ako 50 mg.l<sup>-1</sup> denaturujú jej enzymatickú aktivitu. Aplikácia bentonitu do muštu redukuje rozpustnú frakciu tyrosinázy. Oxidačné reakcie tyrosinázy sú veľmi rýchle, spotreba kyslíka v mušte je až 2 mg.l<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> oproti 1-2 mg.l<sup>-1</sup>.deň<sup>-1</sup> vo víne (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006).

Ak bolo hrozno napadnuté plesňou *Botrytis cinerea*, obsahuje plesňový enzým lakáza, ktorý je stabilný pri pH muštu a odolejšej voči oxidu siričitému ako tyrosináza. Lakáza je schopná zoxidovať GRP a GSH tak už nemôže viazať chinón. Lakáza oxidáciou dokáže v porovnaní s tyrosinázou vytvoriť väčšie množstvo hnedých kondenzačných produktov z rovnakého množstva fenolických zlúčenín.

Pri vyšších hladinách GSH môže byť chinón čiastočne zredukovaný na fenol fixáciou druhej molekuly GSH. Tento nový derivát už nie je oxidovateľný lakázou a oxidácia s následným hnednutím sú tak limitované (SALGUES et al. 1986). Aktivita oxidu siričitého v mušte z hrozna napadnutého hnilobami je pomalšia. Lakázu denaturuje teplota nad 50°C, ale aplikácia bentonitu jej aktivitu znižuje len minimálne (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006).



Obr. 9 Oxidačné mechanizmy v mušte a vplyv GSH: (1) deriváty kyseliny vínnej a hydroxyškoricových kyselín, (2) chinón, (3) GRP, (4) chinón.

Zdroj: SALGUES et al. 1986.

Rýchlosť spotreby kyslíka v muštach bielych odrôd a povaha vytvorených produktov závisí na počiatkovej koncentrácii kyseliny kaftarovej, GSH, kyseliny askorbovej a flavonoidov v mušte (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006). Odrôda a hlavne podmienky dozrievania hrozna ovplyvňujú pomer medzi kyselinou kaftarovou a GSH v mušte. V mušte bohatom na GSH a kyselinu askorbovú sa kyselina kaftarová najprv redukuje kyselinou askorbovou a keď je táto vyčerpaná, kyselina kaftarová reaguje s GSH a tvorí sa GRP. Farba muštu sa mení zo zelenej na béžovú, ale nedochádza k hnednutiu. V mušte chudobnom na GSH a kyselinu askorbovú je spotreba kyslíka rýchlejšia a tvorí sa veľké množstvo chinónov. Dochádza k hnednutiu muštu s nárastom oranžových odtieňov. Chinóny kyseliny kaftarovej kondenzujú s inými flavonoidmi a GRP, ktorých koncentrácia klesá (RIGAUD et al. 1990).

### 5.3.2 Neenzymatická oxidácia

Prídavok 10 mg.l<sup>-1</sup> GSH do vína odrody Sauvignon počas fľaškovania výrazne znížil žltý odtieň vína počas trojročného zrenia v porovnaní s kontrolnou vzorkou (DUBOURDIEU a LAVIGNE 2004). To zvýšilo záujem o schopnosť GSH chrániť biele vína počas zrenia vo fľaši, kedy hrozí neenzymatická oxidácia fenolických zlúčenín (kyselina kávová a jej estery, katechín, epikatechín, kyselina gallová) za vzniku polymerizovaných zoxidovaných produktov tvoriacich hnedý pigment, ktorý negatívne koreluje s kvalitou vína (KRITZINGER 2012). Táto schopnosť je nezávislá na teplote a prítomnosti medi alebo železa vo víne (SONNI et al. 2011).

## 5.4 Vplyv glutatiónu na aromatické látky vo víne

Množstvo aromatických látok vo víne nie je priamo z hrozna, ale sú tvorené počas alcoholickej fermentácie vďaka primárnemu (základnému) alebo sekundárnemu kvasinkového metabolizmu (STYGER et al. 2011).

GSH inhibuje pokles obsahu volatilných esterov (izoamylacetát, etylhexanoát, etyloktanoát, etyldekanoát) a terpenov (linalool,  $\alpha$ -terpineol) v bielych vínach počas skladovania. Účinok je závislý na množstve prídavku GSH, overené bolo množstvo 20 mg.l<sup>-1</sup> GSH (PAPADOPOULOU a ROUSSIS 2008). Nižšie hladiny voľného oxidu siričitého (35 mg.l<sup>-1</sup>) s prídavkom 20 mg.l<sup>-1</sup> GSH a prípadne aj kyseliny kávovej, sú efektívnejšie v ochrane esterov a terpenov ako vyššie hladiny oxidu siričitého nad 50 mg.l<sup>-1</sup>. Ochranný efekt GSH na niektoré estery a terpeny počas skladovania vína sa pripisuje jeho voľnej SH skupine, ktorá poskytuje jedinečné redoxné a nukleofilické vlastnosti (ROUSSIS et al. 2008).

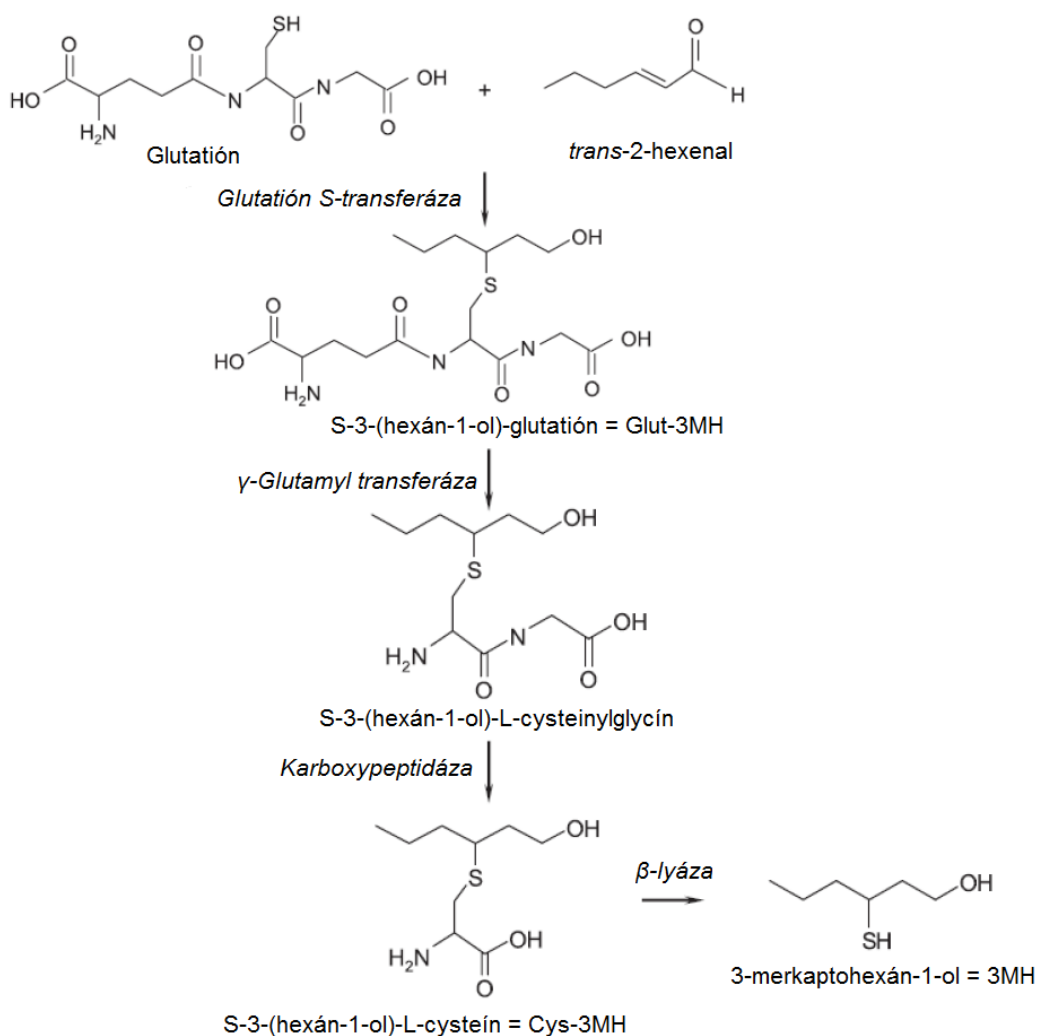
Prídavok zmesi GSH, kyseliny kávovej a gallovej pomáha chrániť estery a iné volatilné látky aj v mladom červenom víne (kvetová a ovocná aróma) pri nízkej hladine voľného oxidu siričitého a môže nahradiť časť jeho typicky pridávaného množstva. Ochranný efekt pridanej zmesi je vďaka ich antioxidačným vlastnostiam (ROUSSIS et al. 2013).

Volatilné thioly (4MMP, 3MH, 3MHA) sú obzvlášť citlivé na oxidáciu počas skladovania a GSH je dôležitý pri ich ochrane. Predfermentačná macerácia zvyšuje koncentráciu prekursorov vonných thiolov v mušte. Vplyv odrody na ich koncentráciu je väčší než rola dostupnosti kyslíka pri macerácii (LARCHER et al. 2013). Bolo vyvinuté úsilie na objasnenie biogenézy týchto molekúl a na spôsob zvýšenia ich koncentrácie v mušte a víne (TOMINAGA et al. 1998). Predfermentáčnejšie prídavky GSH do muštu spôsobujú nižšie koncentrácie



odrodových thiolov v hotovom víne odrody Sauvignon, vhodnejšie načasovanie je prídavok GSH do hotového vína (PATEL et al. 2010). Prídavok 10 mg.l<sup>-1</sup> GSH do vína odrody Sauvignon pri fľaškovaní spôsobil výrazne vyššiu hladinu 3MH v porovnaní s kontrolným vínom po uplynutí troch rokov zrenia vo fľaši (DUBOURDIEU a LAVIGNE 2004). Všeobecne pre biele vína, prídavok 20 mg.l<sup>-1</sup> GSH pri fľaškovaní zabezpečí vyššiu hladinu 3MH počas skladovania vína (UGLIANO et al. 2011). Keďže GSH je tiež thiol, môže súperiť s aromatickými thiolmi pri väzbe na *O*-chinóny a následne znižovať stratu odrodovej vône (TIRELLI et al. 2010).

Odrodové volatilné thioly 4MMP (buxus, čierne ríbezle) a 3MH (grapefruit, múčenka) sa nenachádzajú v hrozne ako voľné thioly, ale sú uvoľňované počas alcoholickej fermentácie z nevolatilných prekurzorov (SWIEGERS et al. 2007). Cys-3MH bol identifikovaný ako prekurzor 3MH v mušte odrody Sauvignon (TOMINAGA et al 1998) a neskôr Glut-3MH ako pro-prekurzor Cys-3MH (THIBON et al. 2011). Molekuly Glut-3MH a Cys-3MH boli identifikované aj v mušte odrody Müller Thurgau (LARCHER et al. 2013). Ako prekurzory 4MMP boli identifikované Cys-4MMP a Glut-4MMP (FEDRIZZI et al. 2009). Obr. 10 zobrazuje biosyntézu 3MH z glutationylových pro-prekurzorov.



Obr. 10 Biosyntéza 3MH z glutationylových prekursorov, kde sa posledný krok deje počas alcoholickej fermentácie

Zdroj: KOBAYASHI et al. 2010.

GSH môže byť zdrojom sírovodíka vo víne tvoreného pri alcoholickej fermentácii, pretože cysteín môže byť degradovaný desulfhydrázou za tvorby sírovodíku. GSH môže prispievať až do 40% sírovodíku uvoľneného kvasinkami s deficitom YAN v prostredí obsahujúcom sírany (HALLINAN et al. 1999). Bolo dokázané, že vína odrody Sauvignon s prídavkom GSH pri fľaškovaní nahromadili vyššie množstvo sírovodíku počas zrenia vo fľaši v porovnaní s vínami bez prídavku GSH. Tento efekt bol zosilnený pri nízkych hladinách kyslíka a prítomnosti väčších koncentrácií medi. Je to kvôli antioxidantnej aktivite GSH, ktorá spôsobuje redukčné podmienky, ktoré podporujú tvorbu sírovodíka (UGLIANO et al. 2011).

## 5.5 Netypické starnutie vína

Prídavok 10 mg.l<sup>-1</sup> GSH do bieleho vína odrody Sauvignon pri fľaškovaní dokázalo obmedziť tvorbu prípadov netypického starnutia vína (sotolon, 2-AAP) počas troch rokov skladovania (Tab. 3). Víno s najvyšším obsahom GSH malo najmenej žltých pigmentov a oxidatívnej arómy a zachovalo si ovocnosť vyhodnotenú koncentráciou 3MH (DUBOURDIEU a LAVIGNE 2004).

Tab. 3 Vplyv prídavku GSH na netypické starnutie vína.

Prípachy netypického starnutia vína	Kontrolné víno	Prídavok 10 mg.l <sup>-1</sup> GSH	Prah vnímateľnosti
Sotolon [μg.l <sup>-1</sup> ]	9	3	8
2-AAP = 2-aminoacetofenón [ng.l <sup>-1</sup> ]	215	125	500 - 1500

Zdroj: DUBOURDIEU a LAVIGNE 2004.

Bez prídavku GSH by sotolon presiahol prah vnímateľnosti. Ukázalo sa, že GSH výrazne znížil hodnotu aj 2-AAP, čo dokazuje vplyv GSH na obmedzenie tvorby látok netypického starnutia vína.

## 5.6 Malolaktická fermentácia

Existuje veľmi málo odbornej literatúry na túto problematiku (KRITZINGER 2012). Zistilo sa, že prídavok GSH do vína s nízkou hodnotou pH podporil rast baktérií *Oenococcus oeni* a zrýchlil proces malolaktickej fermentácie (RAUHUT et al. 2004). Pokus s piatimi červenými vínami odrody Merlot ukázal, že obsah GSH po malolaktickej fermentácii buď zostal rovnaký alebo klesol. Zaznamenal sa pokles obsahu celkového glutatiónu o 21-36% (MARCHAND a DE REVEL 2010).

## 5.7 Šumivé vína

Šumivé vína s prídavkom GSH do muštu obsahujú menšie koncentrácie acetaldehydu. Ten je tvorený počas alcoholickej fermentácie ako reziduálny produkt primárneho metabolizmu kvasiniek alebo mikrobiálnou oxidáciou etanolu pri aeróbných podmienkach. Obsah GSH v mušte napomáha redukcii acetaldehydu na etanol (WEBBER et al. 2014).

Prídavok GSH nemá za následok zníženie obsahu metanolu v šumivom víne (WEBBER et al. 2014). Je tomu tak preto, lebo metanol pochádza z hydrolýzy pektínu z hrozna počas fermentácie a koncentrácia pektínu je závislá na dĺžke predfermentačnej macerácie a na dĺžke kontaktného času pektínu s polymetyl esterázami (RIBÉREAU-GAYON et al. 2006).

Prídavok GSH do základného vína napomáha výskytu spontánnej malolaktickej fermentácie, znižuje koncentráciu fenolických látok, má synergický účinok s oxidom siričitým v jeho antioxidačnej funkcii, čo umožňuje priaznivé zníženie prídavku oxidu siričitého do základného vína pred sekundárnou fermentáciou (WEBBER et al. 2014).

Obsah GSH v šumivom víne nie je ovplyvňovaný množstvom GSH pridaného do muštu alebo základného vína a teda je podobný ako pri tichých bielych vínach. Koncentrácia GSH vo výslednom šumivom víne, do ktorého bol GSH pridaný vo fáze muštu alebo základného vína, je nižšia ako jeho prídavok. Tento fakt môže byť vysvetlený jeho reakciou s *O*-chinónmi pri tvorbe 2-S-glutationylkaftarovej kyseliny alebo jeho intereakciou s kvasinkami. Najvyššia koncentrácia celkového glutatiónu je v šumivom víne, do ktorého bol GSH pridaný vo fáze muštu. Obsah celkového glutatiónu v šumivom víne vykazuje silnú koreláciu s množstvom volatilných látok, ale nie je tu vzťah s GSH. To znamená, že celkový glutatión je lepším indikátorom obsahu glutatiónu ako jeho GSH forma (WEBBER et al. 2014, KRITZINGER 2012).

Obsah celkového glutatiónu v šumivom víne má silne negatívnu koreláciu s kyselinou kávovou ( $r = -0,84$ ), kumarovou ( $r = -0,84$ ), ferulovou ( $r = -0,69$ ), celkovými fenolmi ( $r = -0,88$ ), etyldekanoátom ( $r = -0,78$ ) a s  $C_8$  ( $r = -0,76$ ) a  $C_{10}$  ( $r = -0,81$ ) mastnými kyselinami. Taktiež existuje mierna negatívna korelácia s koncentráciou voľného oxidu siričitého ( $r = -0,47$ ). Na druhej strane vykazuje silnú pozitívnu koreláciu s 2-fenyletanolom ( $r = 0,73$ ), 3-metyl-1-butanolom ( $r = 0,87$ ) a dietylsukcinátom ( $r = 0,8$ ) (WEBBER et al. 2014).

Prídavok GSH do muštu má významnejší účinok na tvorbu priaznivých aromatických a fenolických látok šumivého vína ako prídavok do základného vína. Avšak prídavok GSH do základného vína zachová vyššiu hladinu voľného oxidu siričitého. Prídavok  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  GSH do muštu je dostatočný na zabezpečenie nižších koncentrácií kyselín kávovej, kumarovej a ferulovej vo výslednom šumivom víne. Prídavok  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  GSH do muštu a  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  GSH do základného vína je optimálnou voľbou pre tvorbu šumivého vína s kvalitnejšou arómou a nižším obsahom fenolických látok (WEBBER et al. 2014).

## 6 Exogénny prídavok glutatiónu

Glutatión je v hrozne, je produkovaný kvasinkami počas fermentácie a enologické prípravky na báze inaktivovaných kvasiniek ho obsahujú taktiež. Podľa 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. Toto nariadenie vymenúva povolené enologické postupy pre výrobu vína v rámci EÚ. Exogénny prídavok glutatiónu sa však medzi danými látkami nenachádza a preto je pri vinifikácii zatiaľ nutné pracovať iba s jeho prirodzeným obsahom vo viniči. Nariadenie povoľuje použitie preparátov z bunkových stien kvasiniek a to v množstve najviac 40 g.hl<sup>-1</sup>.

Medzinárodná organizácia pre vinič a víno (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 (Tab. 4).

Tab. 4 Návrhy rezolúcií OIV ohľadne prídavku glutatiónu.

Rezolúcia	Predmet	Účel	Spôsob použitia
OENO-TECHNO 10-445	Prídavok GSH do muštu	Obmedzenie oxidácie a hnednutia muštu.	Prídavok počas získavania muštu a na začiatku alkoholickej fermentácie, zabezpečiť dostatočnú hladinu YAN pre zabránenie spotreby glutatiónu kvasinkami. Maximálna dávka 20 mg.l <sup>-1</sup> .
OENO-TECHNO 10-446	Prídavok GSH do vína	Ochrana aromatických látok vo víne (hlavne thiolov). Obmedzenie netypického starnutia a žltnutia bielych a ružových vín počas skladovania.	Prídavok počas skladovania alebo pri fľaškování vína. Maximálna dávka 20 mg.l <sup>-1</sup> .
OENO-TECHNO 13-532	Prídavok neaktívnych suchých vínnych kvasiniek s vysokým obsahom GSH do muštu.	Obmedzenie oxidácie aromatických látok kvasinkového metabolizmu (thioly) a zvýšenie tvorby esterov počas alcoholickej fermentácie muštov bielych a ružových odrôd. Obmedzenie hnednutia muštu.	Prídavok neaktívnych suchých vínnych kvasiniek s obsahom GSH aspoň 8 mg.g <sup>-1</sup> a to na začiatku alebo počas alkoholickej fermentácie, zabezpečiť dostatočnú hladinu YAN pre zabránenie spotreby glutatiónu kvasinkami.
OENO-TECHNO 13-533	Prídavok neaktívnych suchých vínnych kvasiniek s vysokým obsahom GSH do vína.	Obmedzenie oxidácie aromatických látok kvasinkového metabolizmu (thioly) a žltnutia vína.	Prídavok neaktívnych suchých vínnych kvasiniek s obsahom GSH aspoň 8 mg.g <sup>-1</sup> a to na začiatku zrenia alebo počas skladovania vína.

Zdroj: OIV 2015.

V pláne OIV na rok 2015 je dokončenie horeuvedených návrhov rezolúcií, čo potvrdzuje dôležitosť problematiky.

## 6.1 Enologické preparáty obsahujúce glutatión

Na trhu je v súčasnosti množstvo enologických preparátov na báze neaktívnych suchých vínnych kvasiniek s obsahom glutatiónu (GSH enriched inactive dry yeast GSH-IDY), ktoré by mali zvýšiť senzorickú stabilitu vín vďaka ich schopnosti vyprodukovať vyššiu hladinu GSH vo výslednom víne. Medzi pozitívne vplyvy sa radia zachovanie sviežosti a aromatických látok, zvýšenie plnosti vína, zníženie horkosti vína, zvýšenie koloidnej stability, zlepšenie procesu alcoholickej fermentácie, predĺženie skladovateľnosti naflaškovaného vína a spomalenie oxidačných procesov a hnednutia (POZO-BAYÓN et al. 2009). Existujú preparáty pre biele, ružové aj červené vína. Komerčne dostupné sú produkty spoločností Lallemand, Laffort, Springer Oenologie a Enartis, ktorých príklady sú uvedené v Tab. 5. Zloženie takýchto preparátov najčastejšie obsahuje bunkové steny kvasiniek, amónne soli (sulfát, fosfát), vitamíny (tiamín), mikrokryštalickú celulózu, deaktivované kvasinky obohatené o aminokyseliny a polysacharidy a mannoproteíny z bunkových stien kvasiniek.

Tab. 5 Niektoré komerčne dostupné enologické preparáty obsahujúce glutatión.

Použitie	Produkty	Účinky
Vylepšenie alkoholckej fermentácie	DYNASTAR®, BIOACTIV®, SUPERSTART®, NUTRISTART®, Escorces OF®, Helper 60®, Helper®, Milieu Total®, Genesis Native®, GO Ferm Protect®, Fortiform®, Fermaid E®, Nutrient Vit®, Nutrient Vit Blanc®, Nutrient Vit End®, Maxaferm®, Actimax PLUS®, Actimax XL®, Actimax VIT®, Actimax Bio®, NUTRICEN®, NUTRICEN PLUS®, FERMISTAR®	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Zlepšenie stavby kvasinkových membrán, asimilácie dusíkatých zlúčenín, metabolizmu, rastu, rehydratácie, odolnosti voči osmotickému šoku a etanolu.</li> <li>– Prevencia tvorby sírovodíku.</li> <li>– Zníženie rizika rastlinných tónov.</li> <li>– Ochrana aromatických látok.</li> <li>– Adsorbcia toxických látok.</li> <li>– Zlepšenie senzorických vlastností vína.</li> </ul>
Vylepšenie malolaktickej fermentácie	Atout Malo MBR®, Atout Malo®, Opti'MaloPlus®, ActiML®, Bactiv-aid®, Actimax oeni®	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Komplexná výživa pre <i>Oenococcus Oeni</i>.</li> <li>– Napomáha rýchlemu rastu baktérií a ich prežitiu.</li> <li>– Rýchlejšia malolaktická fermentácia.</li> <li>– Zníženie rizika nežiadúcich baktérií.</li> </ul>
Vylepšenie kvality vína	BIOLEES®, MANNOSTAB®, Genesis Fresh®, Genesis Prime®, Genesis lift®, Fermaid E blanc®, OptiRED®, OptiWHITE®, Red Style®, White Style®, Mannovin®, Extraferm®, Super Bouquet®, Super Bouquet Plus®	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Zvýšenie sladkosti a zníženie horkosti vína.</li> <li>– Eliminácia adstringentných polyfenolov.</li> <li>– Stabilizácia kyseliny vínnej.</li> <li>– Antioxidačné vlastnosti.</li> <li>– Udržanie sviežej vône a farby bielych a ružových vín.</li> <li>– Rýchle uvoľnenie mannoproteínov do vína.</li> <li>– Obmedzenie tvorbu prípachov.</li> <li>– Zvýšenie štruktúru vína.</li> <li>– Odstránenie toxických zlúčenín z muštu a vína.</li> </ul>

Zdroj: POZO-BAYÓN et al. 2009.

Komerčné preparáty sa vyrábajú z tepelne inaktivovaných kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré boli kultivované v koncentrovanom cukrovom médiu v aeróbných podmienkach. Ide o neaktívne kvasinky (získané tepelnou



inaktiváciou pred sušením), kvasinkové autolyzáty (vnútro bunkový obsah je uvoľnený vakuolovými enzýmami pred tepelnou inaktiváciou), bunkové steny alebo telá kvasiniek (nerozpustné zložky bunkových stien okrem cytoplazmy) a kvasinkové extrakty (rozpustný extrakt po úplnej degradácii cytoplazmy) (POZO-BAYÓN et al. 2009).

Inak ako sa očakávalo, kvasinkový extrakt ako rozpustný extrakt cytoplazmy (a GSH ako zložka cytoplazmy) neobsahuje GSH. Najviac GSH spomedzi GSH-IDY preparátov obsahujú kvasinkové lyzáty a to až 4,6 mmol v 100 g preparátu (TIRELLI et al. 2010).

Kontrolné aj GSH-IDY obohatené vína majú obsah celkového glutatiónu maximálny hneď po ukončení alcoholickej fermentácie a to v poradí 8 a 16 mg.l<sup>-1</sup>. GSH-IDY obohatené víno obsahuje omnoho viac aminokyselín a peptidov. To viedlo k hypotéze, že vyšší obsah dusíka v GSH-IDY obohatenom mušte stimuluje tvorbu GSH kvasinkami počas alcoholickej fermentácie. Nepreukázal sa však štatisticky významný rozdiel v obsahu GSH vo výsledných vínach (ANDÚJAR-ORTIZ et al. 2012). Prídavok GSH-IDY preparátov do vína preukázal ochranný efekt na terpeny (linalool,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -citronellol a nerol) počas skladovania vína. Preparáty uvoľnili do vína GSH, ale ochranný efekt nebol len vďaka tejto molekule. Podieľali sa na tom aj iné sírne zlúčeniny a peptidy obsahujúce metionín, tryptofán a tyrozín kvasinkového pôvodu, ktoré mali antioxidačný efekt (RODRÍGUEZ-BENCOMO et al. 2014).

ANDÚJAR-ORTIZ et al. 2010 vyhodnotili efekt prídania GSH-IDY preparátov do ružového vína odrody Grenache ročníku 2008 vinifikovaného priemyselne v 10 000 litrovom tanku. Preparát bol pridaný podľa doporučenia výrobcu (20 g/hl<sup>-1</sup>) pred alcoholickou fermentáciou. Po dokvasení boli vína vyčírené, stabilizované, nafľaškované a skladované pri 12°C. Výsledky potvrdili zníženie straty volatilných látok počas skladovania vína vo fľaši (Tab. 6). Tento efekt autori pripisujú nielen obsahu GSH v preparáte a jeho uvoľneniu do vína, ale aj ďalším látkom obsiahnutým v preparáte.

Tab. 6 Percentuálne zmeny koncentrácií volatilných látok vo vínach skladovaných 1 a 9 mesiacov.

Zlúčenina	Kontrolné víno [%]	Víno s prídavkom GSH-IDY [%]
<i>Estery</i>		
Etyl propanoát	61	100
2-metylpropanolacetát	31	53
Etylbutanoát	43	73
2-metyletanolbutanoát	100	148
Izoamylacetát	33	100
Etylhexanoát	44	66
Hexylacetát	34	53
Heptylheptanoát	50	59
Etyloktanoát	100	50
2-fenyletanolacetát	86	100
<i>Alkoholy</i>		
1-butanol	57	100
1-hexanol	60	100
Cis-3-hexén-1-ol	67	100
<i>Terpény</i>		
$\alpha$ -terpinén	146	170
Linalool	100	165
Citronelolacetát	100	53
<i>Mastné kyseliny</i>		
C <sub>8</sub>	142	100
C <sub>10</sub>	169	100
<i>Ostatné</i>		
2,3-butándion	100	24
Furfural	359	100
$\gamma$ -butirolaktón	63	100

Zdroj: ANDÚJAR-ORTIZ et al. 2010.

Prídavok GSH-IDY preparátov v dávke 0,3 g.l<sup>-1</sup> do syntetického vína zvýšil hladinu GSH o 1 až 2 mg.l<sup>-1</sup> po pol hodine po pridaní (KRITZINGER 2012). Obsah GSSG však ukázal veľkú variabilitu medzi jednotlivými preparátmi, čo dokazuje dôležitosť rozlišovania medzi GSH a celkovým glutatiónom, pretože iba jeho redukovaná forma má antioxidačné vlastnosti (KRITZINGER et al. 2013b).

Načasovanie pridania GSH-IDY preparátov počas vinifikácie vedie k rôznym výsledným koncentráciám GSH vo víne. Rozdiel medzi koncentráciou GSH v kontrolnom a skúšobnom víne, kde boli preparáty aplikované súčasne s inokuláciou kvasinkami alebo v jednej tretine alkoholického fermentácie, je 7 až 8 mg.l<sup>-1</sup>. To je približne štyri až päťkrát viac ako množstvo GSH uvoľneného priamo z GSH-IDY preparátu. Živiny z preparátu (voľné aminokyseliny, peptidy a pod.) pridané pri inokulácii kvasinkami alebo po uplynutí jednej tretiny alkoholického fermentácie vedú k zvýšenej produkcii GSH a jeho uvoľneniu z kvasiniek do vína. Prídavok v poslednej tretine alkoholického fermentácie už nevykazuje žiadne navýšenie GSH, nakoľko kvasinky už pridané živiny nevyužijú. Iné vysvetlenie je založené na fakte, že kvasinky v priebehu prvej tretiny alkoholického fermentácie prednostne prijímajú živiny z prídavku GSH-IDY preparátu pred samotným GSH (KRITZINGER et al. 2013b). Tieto výsledky sú v rozpore s ANDÚJAR-ORTIZ et al. 2012, ktorí nezistili významný rozdiel koncentrácie GSH vo výslednom víne s a bez prídavku GSH-IDY preparátov.

COMUZZO et al. 2015 vyhodnotili, že prídavok GSH-IDY preparátov do vína sa správal veľmi podobne ako oxid siričitý. Je veľmi aktívny pri vychytávaní voľných radikálov (DPPH) a pomerne dobre chráni farbu vína pred hnednutím pri skladovaní.

GSH-IDY preparáty by mali zvýšiť obsah GSH buď jeho uvoľnením do vína alebo umožnením asimilácie GSH prekurzorov kvasinkami počas alkoholického fermentácie pre zvýšenie tvorby GSH. Avšak potrebná optimálna dávka a efekty iných enologických parametrov ako teplota, oxid siričitý a pH zostávajú neznáme (KRITZINGER et al. 2013b).

## 7 Doporučené množnosti využitia glutatiónu v praxi

Keďže exogénny prídavok glutatiónu do muštu alebo vína nie je povolený, je potrebné jeho hladinu zvyšovať cielenými agrotechnickými zásahmi už vo vinohrade. To je dôležité hlavne pri výrobe aromatického bieleho vína. Na základe výsledkov doterajších experimentov sa dajú formulovať nasledujúce doporučenia:

- Dobré zásobenie pôdy dusíkom pre dosiahnutie optimálnej hodnoty YAN v mušte.
- Hnojenie dusíkom počas násady bobúľ.
- Dostatok síry v listoch od začiatku druhej rastovej fázy bobule.
- Pri nedostatku dusíka alebo síry v pôde je možné použitie listových hnojív.
- Vyvarovať sa väčšiemu stresu z nedostatku vlahy.
- Dostatočný obsah glutatiónu v rastline priaznivo vplýva na odolnosť voči chladu a plesňovým infekciám.
- Obsah glutatiónu v liste je možné použiť na diagnostiku GFLV vírusu (zvyšená hladina) a choroby ESCA (pokles pred objavením sa symptómov).
- Čo najväčší pomer listovej plochy k úrode (až  $1,85 \text{ m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ ) je priaznivý nielen pre vyššiu koncentráciu glutatiónu v mušte, ale aj na vyšší obsah 3MH volatilných thiolov vo víne (Sauvignon).
- Odlistenie v zóne strapcov nemá výrazný vplyv.
- Mechanizovaný zber hrozna má negatívny vplyv na obsah glutatiónu (oxidácia).

Počas vinifikácie je povolené použitie enologických preparátov na báze bunkových stien kvasiniek, ktoré obsahujú glutatión. Ak ich vinár nechce použiť, môže využiť niektoré z nasledujúcich doporučení, ktoré majú za cieľ zachovať alebo zvýšiť koncentráciu glutatiónu počas vinifikácie. To má priaznivé efekty hlavne proti enzymatickej (hnednutie muštu) aj neenzymatickej (predčasné starnutie vína) oxidácii a pozitívne vplýva na zachovanie aromatických látok vo víne počas skladovania (estery, terpény, volatilné thioly).

- V celom procese vinifikácie dbať na minimalizáciu oxidácie.
- Uprednostnenie reduktívnej macerácie pred oxidatívnou.
- Zvýšenie hodnoty YAN v prípade jeho nedostatku.
- Lisovanie v dusíkovej atmosfére.
- Samotok obsahuje najviac glutatiónu v porovnaní so zvyšnými frakciami.
- Kvasinky môžu glutatión syntetizovať pri alcoholickej fermentácii, je tu vplyv kmeňa kvasiniek.
- Obmedziť stresové podmienky pre kvasinky (pH, teplota, nedostatočná výživa).
- Nadmerný obsah glutatiónu môže spôsobiť prítomnosť sírovodíku, tento efekt zosilňuje prítomnosť vyšších koncentrácií medi.
- Vína vyrobené reduktívnou technológiou majú vyššiu koncentráciu glutatiónu.
- Pri zrení vína v sude je vhodné ponechať ho na jemných kvasničných kaloch.
- Zrenie v nových sudoch rýchlejšie spotrebuje glutatión ako v starších.
- Pri dostatočnej koncentrácii glutatiónu je možné znížiť dávky oxidu siričitého (antioxidačné vlastnosti glutatiónu).
- Synergické efekty proti oxidácii má aj obsah glutatiónu a kyseliny askorbovej.
- Najvyššia koncentrácia glutatiónu v šumivom vína sa dosiahne prídavkom glutatiónu (preparáty) do základného vína vo fáze muštu.
- 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 alcoholickej fermentácie.

Uvedené odporúčenia pri pestovaní hrozna sa zhodujú so všeobecnými zásadami pre produkciu kvalitnej suroviny. Spolu s popísanými enologickými postupmi je možné aj bez exogénneho prídavku glutatiónu vyrobiť kvalitné biele víno, ktoré si zachová svoje aromatické látky aj počas dlhšieho skladovania vo fľaši.

## 8 Záver

Práca prináša ucelený prehľad problematiky glutatiónu vo vinohradníctve a vinárstve, ktorá stále ponúka témy na výskum a je teda možné na ňu nadviazať aj v diplomovej práci s experimentom. Uvádzam niektoré témy na prebádanie, ktorých objasnenie by prispelo k rozvoju tohto odboru.

Vinohradnícky významné nevysvetlené javy zahŕňajú okrem iných aj otázky, či sa glutatión syntetizuje v listoch alebo aj v bobuliach hrozna, alebo aký je cielene dosiahnuteľný interval hodnôt obsahu glutatiónu v hrozne.

Ďalší praktický výskum je potrebný pre vysvetlenie viacerých aspektov glutatiónu vo víne, hlavne na vysvetlenie vplyvu kmeňa kvasiniek, prídavkov glutatiónom obohatených enologických preparátov a hladín kyslíku počas vinifikácie na výslednú hladinu glutatiónu vo víne. Odborná literatúra takisto nedostatočne popisuje význam glutatiónu pri malolaktickej fermentácii, rolu glutatiónu ako prekursoru sírovodíku pri zrení vína, príspevok glutatiónu na prevenciu tvorbu fenolických polymérov pri použití s oxidom siričitým.

Je potrebné vyhodnotiť metabolizmus GSH viacerými kmeňmi kvasiniek na molekulárnej úrovni, aby sa kvantifikoval pôvod glutatiónu z hrozna a alcoholickej fermentácie zo syntézy kvasinkami.

Existuje hypotéza, že voľné aminokyseliny stimulujú tvorbu GSH kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae*. Viacero autorov aminokyseliny používajú na zvýšenie hladiny GSH vo víne, ale ide vždy len o jeho vnútrobuknovú formu (POZO-BAYÓN et al. 2009 a WEN et al. 2004). Nakoľko bol nedávno objavený Gex1, GSH/protón antiport kvasiniek transportujúci GSH do extracelulárneho priestoru (DHAOUI et al. 2011), existuje iba málo informácií ako a pri akých podmienkach je GSH vylučovaný von z bunky kvasinky.

Súčasný pokrok v analytických technológiách a metódy s krátkym časom analýzy a vysokou presnosťou umožňujú vykonávanie rutinných analýz obsahu glutatiónu (celkového alebo jeho redukovanej formy) vo veľkom počte vzoriek, čo môže priniesť veľkú hodnotu výskumu role glutatiónu vo vinohradníctve a vinárstve.

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

## 9 Zoznam použitej literatúry

- ADAMS, Douglas O. a Chandrika LIYANAGE. Glutathione Increases in Grape Berries at the Onset of Ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1993, 44, s. 333–338.
- AGUDELO-ROMERO, P., ERBAN, A., REGO, C., CARBONELL-BEJERANO, P., NASCIMENTO, T., SOUSA, L., MARTINEZ-ZAPATER, J. M., KOPKA J. a A. M. FORTES. Transcriptome and metabolome reprogramming in *Vitis vinifera* cv. Trincadeira berries upon infection with *Botrytis cinerea*. *Journal of Experimental Botany* [online]. 2015, s. 1-17 [cit. 2015-03-14]. DOI: 10.1093/jxb/eru517. Dostupné z: <http://jxb.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/jxb/eru517>
- ANDÚJAR-ORTIZ, I., RODRÍGUEZ-BENCOMO, J. J., MORENO ARRIBAS, M., MARTÍN ÁLVAREZ, P. J. a M. Á. POZO-BAYÓN. Role of glutathione enriched inactive yeast preparations on the aroma of wines. *33rd World Congress of Vine and Wine*. 2010. [cit. 2015-03-16]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10261/45089>
- ANDÚJAR-ORTIZ, Inmaculada, POZO-BAYÓN, Maria Ángeles, MORENO-ARRIBAS, M. Victoria, MARTÍN-ÁLVAREZ, Pedro J., RODRÍGUEZ-BENCOMO, Juan José, FRANCIS, I. Leigh a Isak S. PRETORIUS. Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography–Fluorescence Detection for the Analysis of Glutathione and Its Precursor  $\gamma$ -Glutamyl Cysteine in Wines and Model Wines Supplemented with Oenological Inactive Dry Yeast Preparations. *Food Analytical Methods* [online]. 2012, vol. 5, issue 1, s. 154-161 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1007/s12161-011-9230-4. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12161-011-9230-4>
- ASSELBERGH, B., CURVERS, K., FRANCA, S. C., AUDENAERT, K., VUYLSTEKE, M., VAN BREUSEGEM, F., HOFTE, M., KOPKA, J. a A. M. FORTES. Resistance to *Botrytis cinerea* in sitiens, an Abscisic Acid-Deficient Tomato Mutant, Involves Timely Production of Hydrogen Peroxide and Cell Wall Modifications in the Epidermis. *Plant Physiology* [online]. 2007, vol. 144, issue 4, s. 1863-1877 [cit. 2015-03-14]. DOI: 10.1104/pp.107.099226. Dostupné z: <http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.107.099226>
- CHEYNIER, V., SOUQUET, J. M. a M. MOUTOUNET. Glutathione content and glutathione to hydroxycinnamic acid ratio in *Vitis vinifera* grapes and must. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1989, 40, s. 320–324.

- CHONÉ, X., TOMINAGA, T. a V. LAVIGNE. Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potential: flavor precursors (s-cysteine conjugates), glutatióne and phenolic content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc grape juice. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2006, 40, s. 1–6.
- COMUZZO, Piergiorgio, BATTISTUTTA, Franco, VENDRAME, Marco, PÁEZ, Mariana Silvina, LUISI, Graziano a Roberto ZIRONI. Antioxidant properties of different products and additives in white wine. *Food Chemistry* [online]. 2015, vol. 168, issue 2, s. 107-114 [cit. 2015-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.028. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614010607>
- DHAOUI, M., AUCHERE, F., BLAISEAU, P.-L., LESUISSE, E., LANDOULSI, A., CAMADRO, J.-M., HAGUENAUER-TSAPIS, R., BELGAREH-TOUZE, N., SUZUKI, S. a T. KONNO. Gex1 is a yeast glutatióne exchanger that interferes with pH and redox homeostasis. *Molecular Biology of the Cell* [online]. 2011, vol. 22, issue 12, s. 2054-2067 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1091/mbc.E10-11-0906. Dostupné z: <http://www.molbiolcell.org/cgi/doi/10.1091/mbc.E10-11-0906>
- DU TOIT, W. J., LISJAK, K., STANDER, M. a D. PREVOO. Using LC-MSMS to assess glutatióne levels in South African white grape juices and wines made with different levels of oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, s. 2765–2769.
- DUBOURDIEU, D. a V. LAVIGNE. *The role of glutatióne on the aromatic evolution of dry white wine*. Vinidea.net, 2004, 2, s. 1–9.
- ELSKENS, M. T., JASPERS, C. J. a M. J. PENNINGCKX. Glutatióne as an endogenous sulfur source in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*. 1991, 137, s. 637–644.
- ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA ONLINE. *Glutatióne*. [online]. 2014 [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: <http://academic.eb.com/EBchecked/topic/235978/glutatióne>
- FEDRIZZI, Bruno, PARDON, Kevin H., SEFTON, Mark A., ELSEY, Gordon M., JEFFERY, David W., FRANCIS, I. Leigh a Isak S. PRETORIUS. First Identification of 4-S -Glutatiónyl-4-methylpentan-2-one, a Potential Precursor of 4-Mercapto-4-methylpentan-2-one, in Sauvignon Blanc Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, vol. 57, issue 3, s. 991-995 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1021/jf802799w. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf802799w>



- FRACASSETTI, D., COETZEE, C., VANZO, A., BALLABIO, D. a W. J. du TOIT. Oxygen consumption in South African Sauvignon Blanc wines: Role of glutathione, sulphur dioxide and certain phenolics. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 2013, 34, s. 156–169.
- FURDÍKOVÁ, Katarína a Fedor MALÍK. Kolobeh síry vo víne. *Vinařský obzor*. 2007, 7-8, s. 370-373
- Glutathione. *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione>
- HALLINAN, CH. P., SAUL, D. J. a V. JIRANEK. Differential utilisation of sulfur compounds for H<sub>2</sub>S liberation by nitrogen-starved wine yeasts. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 1999, vol. 5, issue 3, s. 82-90 [cit. 2015-03-20]. DOI: 10.1111/j.1755-0238.1999.tb00291.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0238.1999.tb00291.x>
- JANEŠ, Lucija, LISJAK, Klemen, VANZO, Andreja, LESUISSE, E., LANDOULSI, A., CAMADRO, J.-M., HAGUENAUER-TSAPIS, R., BELGAREH-TOUZE, N., SUZUKI, S. a T. KONNO. Determination of glutathione content in grape juice and wine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, vol. 674, issue 2, s. 239-242 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1016/j.aca.2010.06.040. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267010008330>
- KOBAYASHI, H., TAKASE, H., KANEKO, K., TANZAWA, F., TAKATA, R. a S. SUZUKI. Analysis of S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine in *Vitis vinifera* L. cv. Koshu for aromatic wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2010, 61, s. 176–185.
- KOBAYASHI, H., TAKASE, H., SUZUKI, Y., TANZAWA, F., TAKATA, R., FUJITA, K., KOHNO, M., MOCHIZUKI, M., SUZUKI, S. a T. KONNO. Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany* [online]. 2011, vol. 62, issue 3, s. 1325-1336 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1093/jxb/erq376. Dostupné z: <http://jxb.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/jxb/erq376>
- KRITZINGER, Engela C. *Winemaking practices affecting glutathione concentrations in white wine* [online]. Stellenbosch, 2012 [cit. 2015-03-04]. Dostupné z:

- <http://hdl.handle.net/10019.1/20295>. Master Thesis. Stellenbosch University. Vedúci práce Dr W. J. du Toit.
- KRITZINGER, Engela C., BAUER, Florian F. a Wessel J. DU TOIT. Role of Glutathione in Winemaking: A Review. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2013a, s. 269-277 [cit. 2014-11-24]. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf303665z. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf303665z>
- KRITZINGER, E.C., STANDER, M.A., DU TOIT, W.J., LESUISSE, E., LANDOULSI, A., CAMADRO, J.-M., HAGUENAUER-TSAPIS, R., BELGAREH-TOUZE, N., SUZUKI, S. a T. KONNO. Assessment of glutathione levels in model solution and grape ferments supplemented with glutathione-enriched inactive dry yeast preparations using a novel UPLC-MS/MS method. *Food Additives* [online]. 2013b, vol. 30, issue 1, s. 80-92 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1080/19440049.2012.728723. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19440049.2012.728723>
- KRITZINGER, E.C., BAUER, F.F. a W.J. DU TOIT. Influence of yeast strain, extended lees contact and nitrogen supplementation on glutathione concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2013c, vol. 19, issue 2, s. 161-170 [cit. 2015-03-16]. DOI: 10.1111/ajgw.12025. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajgw.12025>
- LACROUX, F., TREGOAT, O., VAN LEEUWEN, C., PONS, A., TOMINAGA, T., LAVIGNE, V. a D. DUBOURDIEU. Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2008, 42, s. 125–132.
- LARCHER, R., NICOLINI, G., TONIDANDEL, L., ROMÁN VILLEGAS, T., MALACARNE, M. a B. FEDRIZZI. Influence of oxygen availability during skin-contact maceration on the formation of precursors of 3-mercaptohexan-1-ol in Müller-Thurgau and Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2013, vol. 11, issue 2, s. 342-348 [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1111/ajgw.12039. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajgw.12039>
- LAVIGNE, Valérie, PONS, Alexandre a Denis DUBOURDIEU. Assay of glutathione in must and wines using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, vol. 1139, issue 1, s. 130-135 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.10.083. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306020954>

- LI, Z. S., SZCZYPKA, M., LU, Y. P., THIELE, D. J. a P. A. REA. The yeast cadmium factor protein (YCF1) is a vacuolar glutathione S-conjugates pump. *Journal of Biological Chemistry*. 1996, 271, s. 6509–6517. Dostupné z: <http://www.umich.edu/~djthiele/PDFs/li96.pdf>
- MAGGU, Manu, WINZ, Robert, KILMARTIN, Paul A., TROUGHT, Michael C. T. a Laura NICOLAU. Effect of Skin Contact and Pressure on the Composition of Sauvignon Blanc Must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2007, vol. 55, issue 25, s. 10281-10288 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1021/jf072192o. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf072192o>
- MARCHAND, Stéphanie a Gilles DE REVEL. A HPLC fluorescence-based method for glutathione derivatives quantification in must and wine. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, vol. 660, 1-2, s. 158-163 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1016/j.aca.2009.09.042. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267009013105>
- NOCTOR, Graham a Christine H. FOYER. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review of Plant Physiology* [online]. 1998, roč. 49, č. 1, s. 249-279 [cit. 2015-03-14].
- OKUDA, Tohru a Koki YOKOTSUKA. Levels of Glutathione and Activities of Related Enzymes During Ripening of Koshu and Cabernet Sauvignon Grapes and During Winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1999, 50, s. 264–270.
- OLIVEIRA, C. M., FERREIRA, A. C. S., DE FREITAS, V. a A. M. S. SILVA. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*. 2011, 44, s. 1115–1126.
- ONO, B., SHIRAHIGE, Y., NANJOH, A., ANDOU, N., OHUE, H. a Y. ISHINO-ARAO. Cysteine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*; mutation that confers cystathionine  $\gamma$ -synthase deficiency. *Journal of Bacteriology*. 1988, 170, s. 5883–5889.
- PAPADOPOULOU, Despina a Ioannis G. ROUSSIS. Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by glutathione and N -acetylcysteine. *International Journal of Food Science* [online]. 2008, vol. 43, issue 6, s. 1053-1057 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01562.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2007.01562.x>

- PARK, Seung, BOULTON, Roger B. a Ann C. NOBLE. Formation of Hydrogen Sulfide and Glutathione During Fermentation of White Grape Musts. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2000, 51, s. 91–97.
- PASTORE, Anna, FEDERICI, Giorgio, BERTINI, Enrico a Fiorella PIEMONTE. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2003, vol. 333, issue 1, s. 19-39 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1016/S0009-8981(03)00200-6. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898103002006>
- PATEL, Parimal, HERBST-JOHNSTONE, Mandy, LEE, Soon A., GARDNER, Richard C., WEAVER, Randy, NICOLAU, Laura a Paul A. KILMARTIN. Influence of Juice Pressing Conditions on Polyphenols, Antioxidants, and Varietal Aroma of Sauvignon blanc Microferments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010, vol. 58, issue 12, s. 7280-7288 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1021/jf100200e. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf100200e>
- PENNINCKX, Michel J, ANDÚJAR-ORTIZ, Inmaculada a M. Victoria MORENO-ARRIBAS. An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts. *FEMS Yeast Research* [online]. 2002, vol. 2, issue 3, s. 295-305 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1111/j.1567-1364.2002.tb00098.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1567-1364.2002.tb00098.x>
- PONS, A., LAVIGNE, V., DARRIET, P. a D. DUBOURDIEU. Glutathione Preservation during Winemaking with *Vitis Vinifera* White Varieties: Example of Sauvignon blanc Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* [online]. 2015 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.5344/ajev.2014.14053. Dostupné z: <http://www.ajevonline.org/cgi/doi/10.5344/ajev.2014.14053>
- POZO-BAYÓN, M. Á., ANDÚJAR-ORTIZ, Inmaculada a M. Victoria MORENO-ARRIBAS. Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. *Food Research International* [online]. 2009, vol. 42, issue 7, s. 754-761 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.03.004. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996909000805>
- PUKACKI, Paweł M. a Emilia KAMIŃSKA-ROŻEK. Reactive species, antioxidants and cold tolerance during deacclimation of *Picea abies* populations. *Acta Physiologiae Plantarum* [online]. 2013, vol. 35, issue 1, s. 129-138 [cit. 2015-03-07].

- DOI: 10.1007/s11738-012-1055-2. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11738-012-1055-2>
- RAUHUT, D., GAWRON-SCIBEK, M., BEISERT, B., KONDIZIOR, M., SCHWARZ, R., KÜRBEL, H., GROSSMANN, M. a S. KRIEGER. Der Einfluss von S-haltigen Aminosäuren und Glutathion auf das Wachstum von *Oenococcus oeni* und die malolaktische Gärung, Weinqualität und biologischer Säureabbau. *Zusammenfassung der Berichte des XVIes Entretiens Scientifiques Lallemand*. 2004, s. 21-23.
- RIBÉREAU-GAYON, Pascal, DUBOURDIEU, Denis a Bernard DONÈCHE. *Handbook of enology*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley, c2006-, 2 v. ISBN 0470010371.
- RIGAUD J., CHEYNIER V., SOUQUET J. M. a M. MOUTONET. Mécanismes d'oxydation des polyphénols dans les moûts blancs. *Revue Française d'Œnologie*. 1990, 124, s. 27-31.
- RODRÍGUEZ-BENCOMO, Juan José, ANDÚJAR-ORTIZ, Inmaculada, MORENO-ARRIBAS, M. Victoria, SIMÓ, Carolina, GONZÁLEZ, Javier, CHANA, Antonio, DÁVALOS, Juan a M. Ángeles POZO-BAYÓN. Impact of Glutathione-Enriched Inactive Dry Yeast Preparations on the Stability of Terpenes during Model Wine Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2014, vol. 62, issue 6, s. 1373-1383 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1021/jf402866q. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf402866q>
- ROUSSIS, Ioannis G., SERGIANITIS, Spyros, PRENZLER, Paul D., RIPONI, Claudio a Geoffrey R. SCOLLARY. Protection of some aroma volatiles in a model wine medium by sulphur dioxide and mixtures of glutathione with caffeic acid or gallic acid. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2008, vol. 23, issue 1, s. 35-39 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1002/ffj.1852. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.1852>
- ROUSSIS, I., PATRIANAKOU, G. a A. DROSSIADIS. Protection of aroma volatiles in a red wine with low sulphur dioxide by a mixture of glutathione, caffeic acid and gallic acid. *South African Journal of Enology and Viticulture* [online]. 2013, vol. 34, s. 262-265 [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://journals.sun.ac.za/index.php/sajev/article/view/9>
- SALGUES M., CHEYNIER V., GUNATA Z. a R. WYLDE. Oxidation of grape juice 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid by *Botrytis cinerea* laccase and characterization of a new substance: 2,5-di-SglutathioSglutathionyl caffeoyl tartaric acid. *Journal of Food Science*. 1986, 51, s. 1191-1194.

- SGHERRI, Cristina, RANIERI, Annamaria a Mike F. QUARTACCI. Antioxidative responses in *Vitis vinifera* infected by grapevine fanleaf virus. *Journal of Plant Physiology* [online]. 2013, vol. 170, issue 2, s. 121-128 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1016/j.jplph.2012.09.016. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176161712005019>
- SINGLETON, V. L. Oxygen with phenols and related reactions in must, wines and model systems: observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1987, 38, s. 69–77.
- SONNI, Francesca, C. CLARK, Andrew, PRENZLER, Paul D., RIPONI, Claudio a Geoffrey R. SCOLLARY. Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2011, vol. 59, issue 8, s. 3940-3949 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1021/jf104575w. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf104575w>
- ŠTÍPEK, Stanislav. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada, 2000, 314 s. ISBN 8071697044.
- STYGER, Gustav, PRIOR, Bernard a Florian F. BAUER. Wine flavor and aroma. *Journal of Industrial Microbiology* [online]. 2011, vol. 38, issue 9, s. 1145-1159 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1007/s10295-011-1018-4. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10295-011-1018-4>
- ŠUKLJE, Katja, LISJAK, Klemen, BAŠA ČESNIK, Helena, JANEŠ, Lucija, DU TOIT, Wessel, COETZEE, Zelmari, VANZO, Andreja, DELOIRE, Alain, SUZUKI, S. a T. KONNO. Classification of Grape Berries According to Diameter and Total Soluble Solids To Study the Effect of Light and Temperature on Methoxypyrazine, Glutathione, and Hydroxycinnamate Evolution during Ripening of Sauvignon blanc (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, vol. 60, issue 37, s. 9454-9461 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1021/jf3020766. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf3020766>
- ŠUKLJE, K., BAŠA ČESNIK, H., JANEŠ, L., KMECL, V., VANZO, A., DELOIRE A., SIVILOTTI, P. a K. LISJAK. The effect of leaf area to yield ratio on secondary metabolites in grapes and wines of *Vitis vinifera* L. CV. Sauvignon Blanc. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2013, roč. 47, č. 2, s. 83-97.
- SWIEGERS, J. H., BARTOWSKY, E. J., HENSCHKE, P. A. a I.S. PRETORIUS. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape*



- and Wine Research* [online]. 2005, vol. 11, issue 2, s. 139-173 [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>
- SWIEGERS, Jan H., CAPONE, Dimitra L., PARDON, Kevin H., ELSEY, Gordon M., SEFTON, Mark A., FRANCIS, I. Leigh a Isak S. PRETORIUS. Engineering volatile thiol release in *Saccharomyces cerevisiae* for improved wine aroma. *Yeast* [online]. 2007, vol. 24, issue 7, s. 561-574 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1002/yea.1493. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/yea.1493>
- TERRIER, Nancy, GLISSANT, David, GRIMPLET, Jérôme, BARRIEU, François, AB-BAL, Philippe, COUTURE, Carole, AGEORGES, Agnès, ATANASSOVA, Rossitza, LÉON, Céline, RENAUDIN, Jean-Pierre, DÉDALDÉCHAMP, Fabienne, ROMIEU, Charles, DELROT, Serge a Saïd HAMDÍ. Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta* [online]. 2005, vol. 222, issue 5, s. 832-847 [cit. 2015-03-14]. DOI: 10.1007/s00425-005-0017-y. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00425-005-0017-y>
- THIBON, Cécile, CLUZET, Stéphanie, MÉRILLON, Jean Michel, DARRIET, Philippe a Denis DUBOURDIEU. 3-Sulfanylhexanol Precursor Biogenesis in Grapevine Cells: The Stimulating Effect of *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2011, vol. 59, issue 4, s. 1344-1351 [cit. 2015-03-20]. DOI: 10.1021/jf103915y. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf103915y>
- TIRELLI, Antonio, FRACASSETTI, Daniela a Ivano DE NONI. Determination of Reduced Cysteine in Oenological Cell Wall Fractions of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010, vol. 58, issue 8, s. 4565-4570 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1021/jf904047u. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf904047u>
- TOMINAGA, Takatoshi, PEYROT DES GACHONS, Catherine, DUBOURDIEU, Denis, ELSEY, Gordon M., JEFFERY, David W., FRANCIS, I. Leigh a Isak S. PRETORIUS. A New Type of Flavor Precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-Cysteine Conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 1998, vol. 46, issue 12, s. 5215-5219 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1021/jf980481u. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf980481u>
- U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Glutatióne. *Pubchem: Open Chemistry Database* [online]. 2014 [cit. 2014-11-25]. Dostupné z:

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/glutathione#section=Depositor-Supplied-Synonyms>

- UGLIANO, Maurizio, KWIATKOWSKI, Mariola, VIDAL, Stéphane, CAPONE, Dimitra, SIEBERT, Tracey, DIEVAL, Jean-Baptiste, AAGAARD, Olav a Elizabeth J. WATERS. Evolution of 3-Mercaptohexanol, Hydrogen Sulfide, and Methyl Mercaptan during Bottle Storage of Sauvignon blanc Wines. Effect of Glutathione, Copper, Oxygen Exposure, and Closure-Derived Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2011, vol. 59, issue 6, s. 2564-2572 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1021/jf1043585. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf1043585>
- VALTAUD, Christophe, FOYER, Christine H., FLEURAT-LESSARD, Pierrette a Andrée BOURBOULOUX. Systemic effects on leaf glutathione metabolism and defence protein expression caused by esca infection in grapevines. *Functional Plant Biology* [online]. 2009, vol. 36, issue 3, s. 260-279 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1071/FP08293. Dostupné z: <http://www.publish.csiro.au/?paper=FP08293>
- VUILLEUMIER, Stéphane. Bacterial Glutathione S-Transferases: What Are They Good for? *Journal of Bacteriology*. 1997, 179, s. 1431–1441.
- WEBBER, Vanessa, DUTRA, Sandra Valduga, SPINELLI, Fernanda Rodrigues, MARCON, Ângela Rossi, CARNIELI, Gilberto João a Regina VANDERLINDE. Effect of glutathione addition in sparkling wine. *Food Chemistry* [online]. 2014, vol. 159, s. 391-398 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.03.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614004221>
- WEN, Shaohong, ZHANG, Tao, TAN, Tianwei, LESUISSE, E., LANDOULSI, A., CAMADRO, J.-M., HAGUENAUER-TSAPIS, R., BELGAREH-TOUZE, N., SUZUKI, S. a T. KONNO. Utilization of amino acids to enhance glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology* [online]. 2004, vol. 35, 6-7, s. 501-507 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2004.08.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141022904002169>