

Studie aromatických látek v produktech po kvašení.

I. Obsah aminů v různých druzích vín

JIRÍ HRDLIČKA, JAN KUBÍČEK,

Katedra chemie a zkoušení potravin VŠCHT, Praha — Ústřední kontrola a vývoj jakosti potravin

663.2 : 543.862.2

O látkách, které způsobují charakteristickou vůni a chuť jednotlivých vín je dosud velmi málo známo [1]. Je již jisté to, že pro hodnocení a posuzování vín není směrodatné množství vonných a chuťových látek, ale jejich vzájemné harmonické působení a odstupňování. Vonné a chuťové látky mohou být jednak primární, tj. přítomné již v původní šťávě hroznů, sekundární, tj. vznikající při kvašení a následujícím zrání vína [2]. Koncentrace aromatických látek se pohybuje ve víně od 10^{-3} až 10^{-6} g/l, zatímco etanol, organické kyseliny, cukry a glycerin jsou přítomny v množství až několika g/l. Moderní chromatografické metody, zvláště chromatografie na papíru a chromatografie plynová umožnily řadě pracovníků blíže určit mnohé významné složky vína, které ovlivňují jeho jakost. Tak Bayer a spol. vypracovali několik postupů na chromatografické stanovení aromatických látek ve víně, jako esterů mastných kyselin [3–6], aldehydů [3, 7], těkavých kyselin [8] a alkoholů [3, 10–11].

Na konečné kvalitě vína se však podílí řada dalších látek, z nichž např. i přítomné aminy mohou podstatně ovlivnit chuť a vůni vína. V poslední době se věnoval jejich stanovení Drews a spol. [12–13], Stein von Kamienski [14], Herbst [15], Steiner [16] a Bertetti [17], jednak ve vyšších rostlinách, houbových, ale též v rozličných produktech po kvašení, hydrolýze [18] apod.

Naše práce se zabývá stanovením celkového množství těkavých a netěkavých aminů a určením jednotlivých komponentů těkavých aminů papírovou chromatografií. O aminech přítomných ve víně jsme nenašli podrobnější studie, ačkoli si jistě pozornost zasluhují a nelze ani vyloučit možnost, že jejich obsah je jedním z dalších kritérií jakosti vína.

Experimentální část

Analytické metody

Rozbory uvedených vín byly prováděny podle metod uvedených v JAMU a dále některými aplikovanými metodami podle literárních údajů.

Těkavé kyseliny

Vzorek vína (50 ml) byl podroben destilaci vodní parou a destilát titrován 0,1 N KOH na fenolftalein. Zjištěné množství těkavých kyselin bylo vyjádřeno v g/l jako kyselina octová.

Titrační kyselost

25 ml bylo za tepla titrováno 0,25 N NaOH, za použití bromtymolové modři jako indikátoru. Množství titrovatelných kyselin bylo vyjádřeno v g/l jako kyselina vinná.

Netěkavé kyseliny

Stanovení množství těkavých kyselin (vyjádřených jako kyselina octová) se přepočte na kyselinu

vinnou a odečte od zjištěného množství veškerých titrovatelných kyselin.

Invert

Stanovení invertu bylo provedeno titrační metodou podle Schoorla.

Dusík

Veškerý dusík byl stanoven metodou podle Kjeldahla za použití selenu jako katalyzátoru.

Těkavé aminy

Určité množství vína (2000 ml) bylo zalkalizováno uhlíčitánem sodným na pH 10 a těkavé aminy vydestilovány během 2 hodin vodní parou do předlohy s 1 N-kyselinou solnou. Získaný destilát byl znovu zneutralizován uhlíčitánem sodným na pH 10, přidáno 50 ml 20% hexanitrokobaltitanu sodného k odstranění amoniaku podle Goveho [19] a stejným způsobem jako poprvé provedena destilace. Po vakuovém zahuštění k suchu znovu rozpuštěn ve vodě do 25 ml odměrky. Část takto připraveného vzorku (5 ml) byla zmineralizována koncentrovanou kyselinou sírovou s malým množstvím práš. selenu, převedena do odměrné baňky (25 ml) a použita na stanovení (2 ml). Rozklad proveden 50% roztokem hydroxydu sodného a amoniak předestilován do předlohy s N/50 kyselinou solnou. Zpětně se titruje N/50 hydroxydem sodným za použití indikátoru, připraveného z kyseliny borité (1 g), bromkresolové zeleně (8 mg), metylčerveně (4 mg) a doplněno 30% roztokem izopropanolu na 1000 ml.

1 ml N/50 HCl odpovídá 0,28 mg N

0,34 mg NH_3

0,62 mg metylaminu.

Pro chromatografické rozdělení těkavých aminů byla použita část vzorku před mineralizací. Jako rozpouštědlová soustava se ukázala nejvhodnější směs n-butanol—ledová kyselina octová—voda v poměru 4:1:5. Bylo chromatografováno sestupně na papíře Whatman č. 1. Vyhodnocení chromatogramů se provedlo podle hodnot R_f a standardů. K důkazu těkavých aminů jsou nejvhodnější postřiková činidla:

a) *Ninhydrin* (0,1% roztok v acetonu). Chromatografický papír se buď postříká, nebo protáhne. Suší se při 80 až 90 °C. Vhodné pro primární aminy.

b) *Folinovo činidlo* (0,2 g činidla se doplní 5% roztokem uhlíčitánu sodného na 100 ml a okamžitě se použije k postřiku. Suší se při 60 °C po dobu 15 min. Vhodné pro primární aminy a diaminy.

c) *Jodové páry*. Vhodné pro terciální aminy.

d) *Nitropusid sodný* (3% roztok nitropusidu sodného se smísí s 10% roztokem acetaldehydu a 3% roztokem kyselého uhlíčitánu sodného). Po postřikání se během sušení objeví modré skvrny, které během 30 min zmizí.

Netěkavé aminy

K zbytku po první destilaci, zahuštěnému na 500 ml, bylo přidáno 50 g bezvodého uhličitánu sodného a vytřepáváno 3 × 100 ml amylalkoholu. Aminy z amylalkoholového roztoku byly znovu vytřepány 5 × 40 ml 1 N — H₂SO₄. Tento roztok byl zneutralizován Ba (OH)₂ a po odstranění BaSO₄ použit ke stanovení netěkavých aminů metodou popsanou u těkavých aminů.

pH bylo stanoveno na acidimetru „AK“.

Použité suroviny

K pokusům bylo použito 4 druhů bílého vína a 2 druhů červeného vína ze sklizně roku 1960.

Malokarpatské zlato

Víno dokonale čiré s patrnou jiskrou, světle žlutozelené barvy, méně výrazné vůně, chuť poněkud prázdňější a méně harmonická.

Pezinocké zámocké

Víno čiré s patrnou jiskrou, žlutozelené barvy. Vůně čistá výrazná, chuť dosti plná, harmonická.

Sylvánské zelené

Víno čiré, bez patrné jiskry, typické žlutozelené barvy. Vůně čistá výrazná, chuť plná, harmonická, aromatická, charakteristická pro odrůdu a druh.

Pražský výběr

Víno čiré, bez patrné jiskry, barva typická žlutá se zlatým nahnědlým odstínem. Vůně méně výrazná, čistá. Chuť lahodná, harmonická, charakteristicky nasládlá.

Ludmila (červené)

Víno čiré s patrnou jiskrou, červené, druhu odpovídající barvy. Vůně čistá, příjemná, avšak poněkud málo výrazná. Chuť prázdňější méně ucelená.

Frankovka

Víno čiré, intenzivně červené, typické barvy. Vůně čistá, dosti výrazná. Chuť plná, poněkud méně harmonická, ale plně odpovídající označení.

Diskuse a zhodnocení výsledků

Dusíkaté sloučeniny, převážně bílkoviny a jejich štěpy, přítomné v bobulích vinné révy, mohou ovlivnit vznik aromatických látek při kvašení moštu. Účinkem enzymů (proteas) se bílkoviny štěpí až za vzniku aminokyselin, ze kterých mohou vznikat aminy.

Složení vín, jak ukazuje *tabulka 1*, je normální a odpovídá příslušným požadavkům. Stanovení dusíkatých látek, a to dusíku veškerého a dusíku amino-

vého veškerého udává *tabulka 2*. Podíl celkového dusíku v jednotlivých vínech je různý. Bílá vína obsahují veškerého dusíku od 294 mg/l do 371 mg/l. Výjimku tvoří Sylvánské zelené obsahu dusíku veškerého 511 mg/l. Z červených vín Frankovka obsahuje 504 mg/l, Ludmila 364 mg/l.

Tabulka 2

Víno	Dusík veškerý mg/l	Aminy	
		těkavé + netěkavé jako N mg/l	v procentech z celkového dusíku mg/l
Sylvánské zelené	511	32,39	6,33
Pražský výběr	336	18,75	5,58
Malokarpatské zlato	371	17,32	4,66
Pezinocké zámocké	294	17,50	5,95
Frankovka	504	26,91	5,33
Ludmila	364	39,62	10,88

Aminový dusík veškerý se pohybuje u bílých vín od 17,50 mg/l do 32,39 mg/l, což činí 4,66 % až 6,33 % z veškerého dusíku, u Ludmily toto množství dosahuje až 10,88 %.

Množství těkavých aminů nám ukazuje *tabulka 3*. Jak vidíme z rozborů, převládají ve vínech těkavé aminy, které u bílých vín kolísají od 11,95 mg/l do 15,53 mg/l vyjádřeno jako N, od 26,47 mg/l do 34,43 mg/l vyjádřeno jako metylamin, s výjimkou Sylvánského zeleného 30,10 mg/l; 66,65 mg/l jako metylamin. Červené víno obsahuje těkavých aminů více 24,04 mg/l až 37,46 mg/l N; 53,24 mg/l — 82,93 mg/l jako metylamin.

Tabulka 3

Víno	Těkavé aminy		
	jako methyamin mg/l	jako NH ₃ mg/l	jako N mg/l
Sylvánské zelené	66,65	36,55	30,10
Pražský výběr	34,43	18,89	15,53
Malokarpatské zlato	26,47	14,10	11,95
Pezinocké zámocké	29,53	16,18	13,34
Frankovka	53,24	29,20	24,04
Ludmila	82,96	45,49	37,46

Obsah netěkavých aminů u všech zkoumaných vín je nižší oproti těkavým (*tabulka 4*). U bílých vín je nápadné množství aminů netěkavých (3,22 mg/l do 5,37 mg/l jako N), výjimku činí pouze Sylvánské zelené s obsahem 2,29 mg/l N. Vína červená obsahují 2,16 mg/l až 2,87 mg/l, tedy podstatně nižší množství. Procentické vyjádření poměrů těkavých a netěkavých aminů z obsahu celkového dusíku nám ukazuje *tabulka 5*.

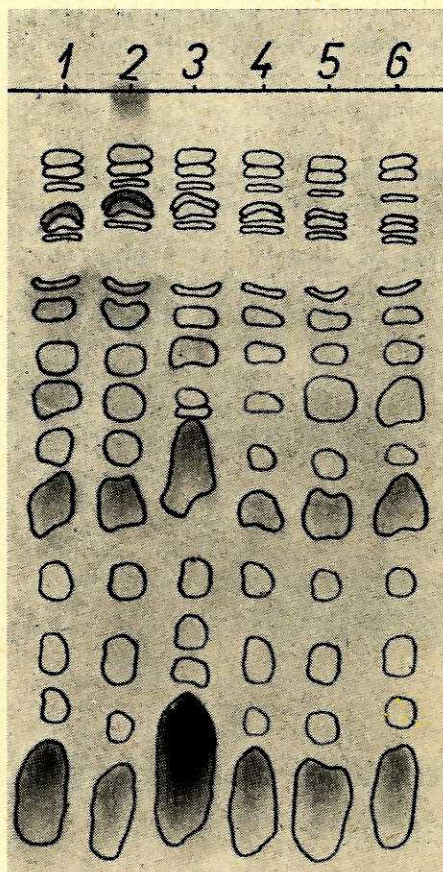
Při chromatografickém rozdělení (*obr. 1, tabulka 6*) vzorků z jednotlivých vín se ukazuje stále stejný výskyt jednotlivých komponentů, ovšem

Tabulka 4

Víno	Netěkavé aminy		
	jako methyamin mg/l	jako NH ₃ mg/l	jako N mg/l
Sylvánské zelené	5,01	2,77	2,29
Pražský výběr	7,13	3,68	3,22
Malokarpatské zlato	11,89	6,52	5,37
Pezinocké zámocké	9,22	5,05	4,16
Frankovka	6,33	3,47	2,87
Ludmila	4,78	2,41	2,16

Tabulka 1

Víno	pH	Kyseliny			Invert. cukr g/l
		veškeré jako kyselina vinná g/l	těkavé jako kyselina octová g/l	netěkavé g/l	
Sylvánské zelené	3,3	5,75	0,69	4,89	2,2
Pražský výběr	3,3	5,65	0,65	4,84	16,8
Malokarpatské zlato	3,3	5,69	0,69	4,83	1,8
Pezinocké zámocké	3,4	5,51	0,76	4,56	1,5
Frankovka	3,1	6,24	0,92	5,09	3,6
Ludmila	3,1	6,29	0,78	5,32	3,2



Obr. 1

1 — Sylvánské zelené; 2 — Frankovka; 3 — Ludmila; 4 — Malokarpatské zlato; 5 — Pezinocké zámocké; 6 — Pražský výběr

v různém množství, zřejmě podle druhu vína. Celkové množství těkavých aminů může být ovlivněno totiž přechodem některých aminů, které destilují jen částečně (polyaminy a některé biologicky významné až po delší destilační době). Přítomnost alifatických aminů C_1 — C_5 odpovídá předpokládanému výskytu. Velmi zajímavé je poměrně velké množství etylaminu a izoamylaminu v červeném víně [Ludmila], mající vliv zřejmě i na množství ostatních aminů, jejichž obsah klesá. Diaminy 1,3-diaminopropan, 1,2-diaminoetan jsou přítomny proti aminům C_1 — C_5 v malém množství; 1,4-diaminobutan, 1,5-diaminopentan spíše ukazuje na vznik při produkci kvasinek, nebo při jejich autolýze. Podobnými pochody se tvoří i malá část polyaminů (N N'-di-1,4-diaminobutan). Sekundární aminy jsou zastoupeny pouze dimethylaminem, a to ještě v nepatrném množství. Z biologicky účinných aminů je přítomen histamin. Skvrna 7 odpovídá sice glutaminu, ovšem s přihlédnutím ke skutečnosti, že kvasin-

Tabulka 5

Vino	Aminy v % veškerého dusíku	
	těkavé	netěkavé
Sylvánské zelené	5,89	0,44
Pražský výběr	4,62	0,95
Malokarpatské zlato	3,22	1,44
Pezinocké zámocké	4,53	1,41
Frankovka	4,76	0,56
Ludmila	10,29	0,59

Těkavé aminy izolované z vína

Pořadí skvrn	Amin	Rf	Množství	Důkaz	Barva
1	N N'-di-1,4-diaminobutan	0,03	+	N	ČF
2	1,2-diaminopropan	0,09	+	N	ČF
3	1,4-diaminobutan	0,11	+	N	ČF
4	1,2-diaminoetan	0,13	+	N	ČF
5	1,5-diaminopentan	0,14	+	N	F
6	Histamin	0,16	+	N	F
7	Glutamin	0,20	+	N	F
8	Neidentifikováno	0,22	+	N	ČF
9	Dietanolamin	0,24	+	N	F
10	Metylamin	0,29	++	N	F
11	Dimethylamin	0,32	stopy	N, Ness	HF
12	Etylamin	0,38	+++	N	F
13	Izopropylamin	0,43	+	N	F
14	Propylamin	0,50	++	N	F
15	Izobutylamin	0,58	+	N	F
16	Izoamylamin	0,68	+++	N	F

ky využívají nejdříve amidického dusíku, je nálezk glutaminu do jisté míry problematický. V některých případech bývá obsah dusíkatých látek velmi vysoký, kvasinky je nespotebují všechny pro svoji činnost, takže část jich zůstává nedotčena. Vznik aminů z bílkovin je podmíněn jednak druhem přítomných aminokyselin a samozřejmě i přítomností některých jiných složek vín. Obsah a pohyb aminů může se uplatnit v jakosti, avšak potvrzení tohoto názoru by si vyžádalo podrobnější studium.

Souhrn

Provedená analýza 4 druhů bílého vína a 2 druhů červeného vína objasnila částečně poměr mezi veškerým dusíkem a aminovým dusíkem. Veškerého dusíku je přítomno od 294 mg/l do 511 mg/l. Aminový dusík dosahuje až 39,62 mg/l, to je 10,88 % z veškerého dusíku. Množství těkavých aminů kolísá od 11,95 mg/l do 37,46 mg/l jako N, to je od 3,22 % do 10,29 % z veškerého dusíku. Netěkavé aminy od 2,16 mg/l do 5,37 mg/l, to je 0,44 až 1,44 % z veškerého dusíku. Papřovou chromatografií bylo izolováno celkem 16 komponentů, z nichž převážná část byla identifikována pomocí standardů, hodnot Rf, a vyvoláním různými činidly. Zjištěny byly alifatické aminy C_1 — C_5 , diaminy a polyaminy.

Literatura

- [1] Hennig V., Villforth F.: Vorratspflege und Lebensmittelforschung, 5, 181 (1942).
- [2] Laho L., Minarik E.: Vinárstvo, Bratislava 1959.
- [3] Krumphanz V., Dyr J.: Průmysl potravin 13, 436 (1962).
- [4] Bayer E.: Vitis 1, 34 (1957).
- [5] Bayer E., Reuther H.: Chem. Ber. 89, 2541 (1956).
- [6] Bayer E., Reuther H.: Angew. Chem. 68, 698 (1956).
- [7] Bayer E.: Vitis 1, 93 (1957).
- [8] Bayer E.: Vitis 1, 298 (1958).
- [9] Bayer E.: Vitis 1, 298 (1958).
- [10] Drawert F.: Vitis 2, 172 (1960).
- [11] Drawert F., Kupfer E.: Angew. Chem. 72, 33 (1960).
- [12] Drews B., Just F., Drews H.: Die Brauerei 11, 169 (1958).
- [13] Riedel K. V., Drews B.: Die Brauereiwirtschaft 100, 267 (1960).
- [14] Stein von Kamienski E.: Planta 50, 291 (1957).
- [15] Herbst J. E., Keister D. L., Weaver R. H.: Arch. of Biochem. Biophys. 75, 178 (1958).
- [16] Steiner M., Stein von Kamienski E.: Naturwissenschaften 40, 483 (1953); 42, 345 (1955).
- [17] Bertetti J.: Ann. Chimica 43, 351 (1953); 44, 313 (1954); 44, 495 (1954).
- [18] Hrdlička J., Janiček G.: Sborník Vysoké školy chemicko-technologické v Praze, oddíl fakulty potravinářské technologie, v tisku.
- [19] Gove J. L., Baum H., Stanley E. L.: Analyt. Chem. 23, 721 (1951).

Došlo do redakce 15. 11. 1962.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ
АРОМАТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ
В ПРОДУКТАХ БРОЖЕНИЯ

В статье описываются результаты анализов четырех сортов белого вина и двух сортов красного. Анализы объясняют до известной степени закономерности соотношений между общим содержанием азота и долей аминокислот. С помощью бумажной хроматографии было изолировано 16 составляющих, из которых преобладающая часть была точно идентифицирована посредством эталонов, значений фактора R_f , а также выявления разными реактивами. Было установлено присутствие алифатических аминов C_1-C_5 , диаминов и полиаминов.

STUDIE DER AROMATISCHEN STOFFE
IN DEN PRODUKTEN NACH DER
GÄRUNG

Die durchgeführten Analysen von 4 Weißwein- und 2 Rotweinsorten klärten teilweise das Verhältnis zwischen dem Gesamt- und Aminostickstoff. Mittels Papierchromatographie wurden im ganzen 16 Komponenten isoliert, deren Mehrheit mit Hilfe von Standarden R_f -Werten und Detektion durch verschiedene Reagenzien identifiziert wurde. Es wurden die alifatischen Amine C_1-C_5 , Diamine und Polyamine festgestellt.

AROMATIC SUBSTANCES
IN FERMENTATION PRODUCTS

The article deals with the results of analyses of 4 sorts of white and 2 sorts of red wine, which explain to a certain degree the factors determining the proportions of free nitrogen and its amino form. Sixteen components have been isolated and identified by means of paper chromatography. Various methods were applied to ensure correct identification, as e. g. standard samples, comparison of R_f values, various development procedures, employing different developers etc. The presence of aliphatic amines of the C_1-C_5 range, diamines and polyamines has been ascertained.