

Ing. KAREL PRŮŠA, Ing. OLDŘICH ŠMEJKAL, Moravské vinařské závody, k. p., Mikulov

Neustálé zvyšování nároků na kvalitu vinařských výrobků a zejména zavádění velkovýrobních forem ve vinařských podnicích vyžaduje hlubší poznání biochemických procesů při výrobě vína, počínajíc sběrem hroznů, jejich zpracováním na víno, ošetřováním vína a končíc expedicí hotových výrobků.

Na zkvalitnění poznatků o změnách při výrobě vína výrazně působí využívání nových analytických metod.

Při běžných laboratorních rozborech získáváme přehled pouze o obsahu celkových titrovatelných kyselin a obsahu těkavých kyselin bez rozlišení jednotlivých kyselin.

Chemické stanovení jednotlivých organických kyselin má mnoho nevýhod. Je obyčejně pracné a zatížené chybami, způsobenými velkým množstvím operací potřebných k izolaci a samotnému stanovení. I přítomnost ostatních kyselin, popřípadě jiných interferujících látek může mít vliv na přesnost výsledků.

Velmi vhodnou metodou na identifikaci a stanovení organických kyselin se stala izotachoforéza. Má mnohé výhody proti uvedeným metodám, a to především minimální spotřebu vzorků, a taktéž možnost analýzy bez předchozí úpravy vzorků, kromě event. zředění.

Princip izotachoforézy

Izotachoforéza je jedinou z metod elektroforézy. Je to metoda separační, při níž se v důsledku nestejné pohyblivosti iontů různých látek (ve stejnosměrném homogenním elektrickém poli) směs těchto látek rozdělí.

Pohyblivost iontu je průměrná rychlost iontu, kterou se pohybuje vlivem potenciálu 1 V. Je dána vztahem:

$$u = \frac{V}{E},$$

kde u je pohyblivost iontu,

V — rychlost iontu,

E — intenzita elektrického pole.

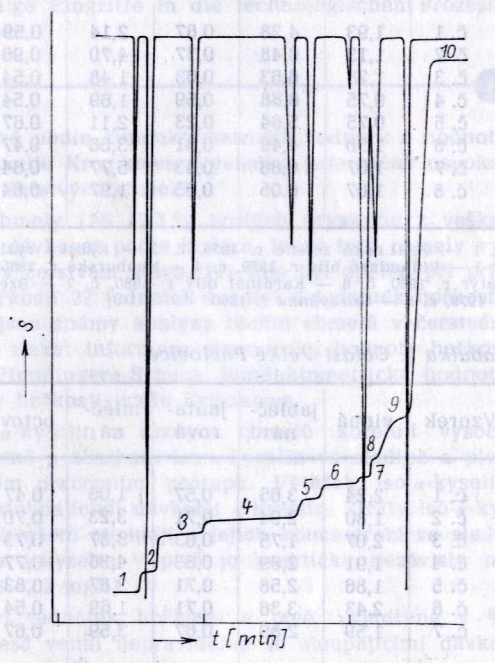
Pohyblivost iontu závisí na mnoha faktorech, jako jsou například hodnoty pH, pK, teplota koncentrace, solvatační poměr, náboj iontů a jiné.

Vlastní analýza probíhá v zařízení, které se skládá z teflonové kolony s vnitřním průměrem 0,2–0,4 mm, z dávkovacího zařízení, ze dvou elektrodových prostorů a detektoru. Elektrodové prostory jsou přímo připojeny na stabilizovaný zdroj proudu. Aby nevznikal hydrodynamický tok mezi dvěma elektrodovými prostory, je mezi nimi polopropustná membrána. Jako detektory se v současnosti používají především vodivostní detektor a UV-absorpční detektor.

Při separaci aniontů jsou anodový prostor a celá kapilára naplněny tzv. vodicím elektrolytem (leading electrolyte). Jeho kationt je součástí tlumivého roztoku a aniont musí mít ze všech iontů největší pohyblivost. Katodový prostor je naplněn tzv. zakončujícím elektrolytem (terminating electrolyte), jehož aniont musí mít nejmenší pohyblivost. Ionty analyzované směsi musí mít pohyblivost v rozmezí mezi pohyblivostmi vodicího a zakončujícího elektrolytu. Vzorek se dávkuje mikrolitrovou injekční stříkačkou na rozhraní mezi vodicím a zakončujícím elektrolytem. Po vložení napětí na elektrody (řádově kV) začne kolonou protékat proud. Jelikož různé ionty mají různou pohyblivost, vytvoří se zóny, které se pohybují k příslušné elektrodě. Každý aniont vzorku má odlišnou rychlost:

$$v = u \cdot E$$

Zóny vzorku se budou nacházet mezi zónami vodicího a zakončujícího elektrolytu a budou seřazeny podle efektivních pohyblivostí: první bude zóna, jejíž ionty



Obrázek 1 Izotachoforeogram analýzy vína

Zóny: 1 = Cl⁻, 2 = SO₄²⁻, 3 = kyselina vinná, 4 = jablečná, 5 = jantarová, 6 = mléčná, 7 = octová, 8 = neidentifikovaná zóna, 9 = kyselina sorbová, 10 = MES

mají nejvyšší efektivní pohyblivost, poslední zóna obsahuje anionty vzorku s nejmenší efektivní pohyblivostí.

Po dosažení ustáleného stavu a při kontaktním proudě se všechny zóny pohybují stejnou rychlostí. Na základě jejich různých vlastností (teplota, vodivost, pH atd.) jsou detekovány detektorem, umístěným při výstupu z kolony.

Využití izotachoforézy ve vinařství vypracovali Polonský a Farkaš, a to pro stanovení kyselin, kationtů a aminokyselin.

Identifikace jednotlivých látek po předchozí izotachoforetické analýze se vyhodnocuje ze získaného integrálního záznamu, který má schodovitý charakter. Jedné látce při stejných podmínkách separace odpovídá vždy stejná hodnota charakteristické konstanty, bez zřetele na to, zda se vyskytuje daná látka samostatně nebo ve směsi.

Obsah látky přítomné v analyzované směsi je ve vztahu k délce zóny L , resp. k délce schodu, získaného zapišovačem.

Vlastní stanovení kyselin

Byla analyzována vína ze čtyř hlavních vinařských oblastí jižní Moravy, a to z oblastí Mikulov, Bzenec, Velké Pavlovice a Znojmo.

Tabulky 1 až 4 podávají přehled o zastoupení jednotlivých kyselin v analyzovaných vzorcích a současně ukazují jejich množství.

Tabulka 1. Výsledky rozborů vín jednotlivých vinařských oblastí Moravy. Jednotlivé výsledky obsahu kyselin jsou uváděny v g/l. Stanovení probíhalo při konstantních podmínkách $I = 80 \mu A$, $pH = 5,0$ za přídavku $Ca(II)$.

Oblast Bzenec

Vzorek	vinná	jablečná	jantarová	mléčná	octová	celkem
č. 1	1,93	4,28	0,67	2,14	0,59	9,62
č. 2	1,13	6,48	0,37	4,70	0,96	13,64
č. 3	1,28	6,63	0,63	1,48	0,54	10,56
č. 4	0,75	6,88	0,59	1,69	0,54	10,45
č. 5	0,75	5,64	0,23	2,11	0,67	9,40
č. 6	1,38	4,49	0,31	3,66	0,47	10,31
č. 7	1,07	0,86	0,43	5,77	0,64	8,77
č. 8	1,07	6,05	0,55	1,97	0,64	10,28

č. 1 — Veltlínské zelené r. 1979, č. 2 — Rýnský rýzlink r. 1980, č. 3 — Rulandské bílé r. 1979, č. 4 — Neuburské r. 1980, č. 5 — Bohatýr r. 1980, č. 6 — Kardinál bílý r. 1980, č. 7 — Bzenecká lipka r. 1979, č. 8 — Moravěnka r. 1980

Tabulka 2. Oblast Velké Pavlovice

Vzorek	vinná	jablečná	jantarová	mléčná	octová	celkem
č. 1	2,24	3,65	0,57	1,06	0,47	8,59
č. 2	1,80	2,94	0,71	3,23	0,70	9,38
č. 3	2,07	1,75	0,63	3,87	0,73	9,05
č. 4	1,91	2,89	0,83	4,36	0,77	10,76
č. 5	1,86	2,58	0,71	3,87	0,83	9,85
č. 6	2,43	3,36	0,71	1,69	0,54	8,73
č. 7	1,59	2,89	0,67	3,59	0,67	9,41

č. 1 — Jihomoravské bílé r. 1980, č. 2 — Tramín r. 1980, č. 3 — Rýzlink rýnský r. 1980, č. 4 — Tramín r. 1980, č. 5 — Rulandské bílé r. 1980, č. 6 — Maryša bílá r. 1980, č. 7 — Neuburské r. 1980
U vzorku č. 1 — Jihomoravské bílé bylo nalezeno 0,62 g kyseliny citrónové.

Tabulka 3. Oblast Mikulov

Vzorek	vinná	jablečná	jantarová	mléčná	octová	celkem
č. 1	1,91	4,45	0,59	1,69	0,54	9,18
č. 2	1,81	3,83	0,63	2,60	0,54	9,41
č. 3	1,86	1,69	0,43	5,91	0,67	10,56
č. 4	2,12	1,33	0,39	7,66	0,57	12,07
č. 5	1,70	3,88	0,59	2,60	0,63	9,40
č. 6	1,39	5,64	0,71	2,25	0,83	10,82
č. 7	2,02	4,14	0,59	2,25	0,54	9,54
č. 8	1,91	2,89	0,75	4,01	0,60	10,16
č. 9	1,96	1,69	0,59	6,12	0,77	11,13
č. 10	0,80	4,29	0,47	3,45	0,44	9,45
č. 11	0,49	2,63	0,39	4,65	0,73	8,89
č. 12	0,96	4,49	1,43	1,69	0,60	9,17

č. 1 — Dia víno r. 1981, č. 2 — Rýzlink vlašský r. 1981, č. 3 — Vavřínecké r. 1981, č. 4 — Vavřínecké r. 1981, č. 5 — Rýzlink vlašský r. 1980, č. 6 — Neuburské r. 1980, č. 7 — Veltlínské zelené r. 1981, č. 8 — Mikulovská romance bílá r. 1981, č. 9 — Domácí bílé — výkup r. 1981, č. 10 — Mikulovská romance bílá r. 1980, č. 11 — Poesie r. 1980, č. 12 — Neuburské r. 1980

Tabulka 4. Oblast Znojmo

Vzorek	vinná	jablečná	jantarová	mléčná	octová	celkem
č. 1	1,28	6,36	0,75	1,69	0,40	10,48
č. 2	0,91	7,35	0,51	1,55	0,54	10,86
č. 3	1,86	1,49	0,63	3,80	0,47	8,25
č. 4	1,91	0,39	0,59	5,20	0,47	8,56
č. 5	2,65	0,24	0,55	5,62	0,50	9,06
č. 6	0,85	5,54	0,63	2,74	0,87	10,63
č. 7	1,12	0,76	0,35	10,54	0,77	13,54
č. 8	0,91	7,30	0,51	1,55	0,57	10,84
č. 9	1,18	4,61	0,63	3,59	0,80	10,81
č. 10	0,85	5,07	0,67	1,27	0,44	8,30
č. 11	1,28	3,31	0,47	5,76	0,63	11,45

č. 1 — Sauvignon r. 1980, č. 2 — Veltlínské zelené r. 1980, č. 3 — Müller-Thurgau r. 1981, č. 4 — Müller-Thurgau r. 1981, č. 5 — Rýzlink vlašský r. 1981, č. 6 — Tramín r. 1980, č. 7 — Vavřínecké r. 1980, č. 8 — Veltlínské zelené r. 1980, č. 9 — Znojemský Bakchus r. 1980, č. 10 — Müller-Thurgau r. 1980, č. 11 — Neuburské r. 1980.
U vzorků č. 6, 7, a 9 se uvolnily PE uzávěry. Tato vína mají vyšší obsah kyseliny octové.

Diskuse výsledků

Z výsledků je patrné, že vína z okrajových oblastí (Bzenec, Znojmo) mají menší obsah kyseliny vinné. Dále je zcela zřetelné, že vína ze špatného ročníku 1980, která byla nedostatečně vyžralá, mají menší obsah kyseliny vinné a vysoký obsah kyseliny jablečné, popřípadě kyseliny mléčné, podle stupně biologického rozštěpení. Výsledky jsou ovšem zakresleny tím, že byla analyzována vína, která v mnoha případech byla již odkyselována vysrážením kyseliny vinné. Další zkoumání by bylo vhodné zaměřit na rozbor vína ihned po sklizni a podle těchto rozborů by se daly přizpůsobovat technologické zásahy do výroby vína.

Závěr

Izotachoforetická analýza je velmi vhodnou metodou k identifikaci a stanovení obsahu organických kyselin ve vínech.

Tato metoda umožňuje jednoduše a rychle stanovit nejen druh, ale také jejich obsah, což by při zavedení izotachoforézy do vinařství umožnilo uvědomělé zásahy do technologických procesů při výrobě vína.

Také další možnosti izotachoforézy, stanovení kationtů, aminokyselin, doporučují tuto metodu pro širší uplatnění ve vinařském průmyslu.

Literatura

- [1] Metody zkoušení révových vín, tokajských vín a vín sladových ČSN 56 0216
- [2] FARKAŠ, J.: Technologie a biochemie vína, SNTL, Praha 1980
- [3] BECKERS, I. L., EVERAETS, F. M.: J. Chromatogr. **68**, 1972, s. 307
- [4] BECKERS, I. L., EVERAETS, F. M.: J. Chromatogr. **71**, 1972, s. 380
- [5] KENDLER, I., KANIANSKÝ, D.: J. Chromatogr. **82**, 1981, s. 209, 336
- [6] VACÍK, J., ZUSKA, J., EVERAETS, F. M.: Verheggen Th. P. E. M. Chem. listy **66**, 1972, s. 545
- [7] POLONSKÝ, J., FARKAŠ, J.: Možnosti využití izotachofórey ve vinářství. In: Progresivně směry ve vinářské technologii, Tatranská Lomnica, 1978, s. 109—114

Průša, K. - Smejkal, O.: Použití izotachofórey pro rozlišení kyselin ve víně. Kvas. prům. **29**, 1983, č. 1, s. 7—9.

Sdělení obsahuje výsledky stanovení organických kyselin izotachometrickou analýzou v úpravě podle Polanského a Farkaše ve vzorcích jihomoravských vín z oblasti Bzenec, Velké Pavlovice, Mikulov a Znojmo.

Vína z okrajových oblastí mají nižší obsah kyseliny vinné. Vína ze špatného ročníku 1980 měla rovněž nižší obsah kyseliny vinné, avšak vysoký obsah kyseliny jablečné, popř. kyseliny mléčné.

Izotachoforetickou analýzu označují autoři za velmi vhodnou k rychlé identifikaci a stanovení obsahu organických kyselin ve víně, která by po zavedení umožnila také účelné zásahy do technologických procesů.

Пруша, К., Смейкал, О.: Применение изотакхофореза для определения кислот в вине. Квас. прум., **29**, 1983, № 1, стр. 7—9.

Сообщение содержит результаты установлений органических кислот изотакхометрическим анализом, видоизмененным по Поланскому и Фаркашу в образцах вин южной Моравии из областей Бзенец, Велке Павловице, Микулов и Зноймо.

Вина из краевых областей отличаются низшим содержанием винной кислоты. Вина урожая 1980, плохого качества, также имели более низкое содержание винной кислоты, однако высокое содержание яблочной или же и молочной кислот.

Изотакхофоретический анализ авторы определяют как весьма подходящий метод для быстрого определения

содержания органических кислот в вине, который после внедрения дал бы возможность целесообразно изменять технологические процессы.

Průša, K. - Smejkal, O.: Application of Isotachophoresis for a Distinction of Acids in Wine. Kvas. prům. **29**, 1983, No. 1, p. 7—9.

The article contains results of the determination of organic acids by isotachometric analysis in the modification by Polanský and Farkaš in samples of South-Moravia wines from a region Bzenec, Velké Pavlovice, Mikulov, and Znojmo. The wines from peripheral regions have a lower content of tartaric acid. The wines from a bad year 1980 also had a lower content of tartaric acid but on the other hand they had a high content of malic and lactic acids. The authors consider isotachophoretic analysis very suitable for a quick identification and determination of organic acid contents in wine. An application of this method would make possible the desired interferences into technological procedures.

Průša, K. - Smejkal, O.: Anwendung der Isotachophorese zur Unterscheidung der Säuren im Wein. Kvas. prům. **29**, 1983, Nr. 1, S. 7—9.

Die Mitteilung enthält die Ergebnisse der Bestimmungen organischer Säuren mittels der Isotachometrischen Analyse in der Modifikation nach Polanský und Farkaš in Proben südmährischer Weine aus dem Gebiet Bzenec, Velké Pavlovice, Mikulov und Znojmo.

Die Weine aus den Randgebieten weisen einen niedrigeren Weinsäuregehalt auf. In den Weinen des schlechten Jahrgangs 1980 wurde auch ein niedrigerer Gehalt der Weinsäure, jedoch ein höherer Gehalt der Apfelsäure, bzw. Milchsäure festgestellt.

Die isotachoforetische Analyse wird von den Autoren als sehr gut geeignet zur schnellen Identifikation und Bestimmung des Gehalts organischer Säuren im Wein empfohlen; die Einführung dieser Methode würde zweckmäßige Eingriffe in die technologischen Prozesse ermöglichen.