Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 60 (1969)

Heft: 3

Artikel: Enzymatische Milchsäurebestimmung in Weinen

Autor: Mayer, K. / Pause, G.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982490

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Enzymatische Milchsäurebestimmung in Weinen

K. Mayer und *G. Pause*
Eidg. Forschungsanstalt, 8820 Wädenswil

Die Höhe des Milchsäuregehalts in Weinen hängt im wesentlichen davon ab, bis zu welchem Grad die betreffenden Getränke den «biologischen Säureabbau» vollzogen haben; bei diesem Prozeß wird die Aepfelsäure auf bakteriellem Weg teilweise oder vollständig zu Milchsäure decarboxyliert. Für eine Anzahl Schweizer Weine fanden wir kürzlich Milchsäuregehalte zwischen 0,7 und 4,8 g/l, der größte Teil hievon im Bereich von 2—3 g/l (1). Weine mit weniger als 2 g Milchsäure/l wiesen zumeist erhöhte Anteile an D (—)-Milchsäure sowie noch deutliche Aepfelsäuregehalte auf.

Da bei der Milchsäurebestimmung in Wein verschiedene Störfaktoren in Betracht kommen, läßt sich diese Säure auf konventionelle Weise nur unter beträchtlichem Aufwand erfassen. Die bereits verhältnismäßig umständliche *Lieb-Zacherl*-Methode (modifiziert nach *Koch* und *Bretthauer* [2]) eignet sich nicht für vergorene Getränke wegen Störung durch 2,3-Butylenglykol (3, 4); wie sich bei entsprechenden Untersuchungen in unserem Labor ergab, kann der mit dieser Methode an Weinen erhaltene Fehler 100 % übersteigen. Günstige Ergebnisse erhielten wir dagegen mit einem Verfahren, bei welchem die Säuren vorerst an Anionenaustauschern abgetrennt und nach Elution einer $CuSO_4/Ca(OH)_2$-Behandlung unterworfen wurden, worauf im weiteren nach *Koch* und *Bretthauer* vorgegangen wurde. Diese Methode gestaltete sich jedoch sehr zeitraubend; so erforderten serienmäßige Bestimmungen an 20 Proben rund 40 Arbeitsstunden.

Der Umstand, daß die Milchsäure je nach Abbaugrad im Wein in Form von variablen Anteilen an L(+)- und D(—)-Lactat vorliegt und daß für eine Bestimmung auf enzymatischem Weg ausschließlich die L(+)-Lactatdehydrogenase zur Verfügung stand, verunmöglichte bisher die Anwendung eines derartigen Verfahrens. Nachdem neuerdings ebenfalls ein D(—)-Lactatdehydrogenase-Präparat erhältlich ist*, lassen sich Milchsäurebestimmungen auch in Wein auf einfache Weise bewerkstelligen. Im Prinzip wird dabei die Milchsäure unter geeigneten Bedingungen spezifisch zu Pyruvat dehydriert, vorgelegtes NAD durch den abgespaltenen Wasserstoff gleichzeitig reduziert und letztere Reaktion photometrisch ausgewertet:

$$1.\ \text{L}(+)\text{-Lactat} + \text{NAD}^+ \xrightleftharpoons{\text{L-Lactatdehydrogenase}} \text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

$$2.\ \text{D}(-)\text{-Lactat} + \text{NAD}^+ \xrightleftharpoons{\text{D-Lactatdehydrogenase}} \text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

* Wir danken der Firma Boehringer Mannheim GmbH, Werk Tutzing, für die freundliche Ueberlassung eines D-Lactatdehydrogenase-Musters.

Die während der Reaktion gebildete NADH-Menge ist äquivalent zur L- und D-Lactatmenge. NADH ist Meßgröße und wird aufgrund seiner Adsorption bei 340 nm oder 366 nm bestimmt.

Bestimmungsvorschrift (nach 5)

Lösungen für ca. 100 Bestimmungen:

Lösung 1	11,4 g Glycin 25 ml Hydrazinhydrat, 24 % mit ca. 275 ml dest. Wasser verdünnen. Soll-pH: 9,0. Lösung bei ca. 4 ° C 6 Monate haltbar.
Lösung 2	600 mg NAD (Boehringer Nr. 15300 CNAA) mit 20 ml dest. Wasser lösen. Bei ca. 4 ° C 4 Wochen haltbar.
Suspension 3	2 ml L-Lactatdehydrogenase (5 mg/ml) (Nr. 15371 ELAC).
Suspension 4	2 ml D-Lactatdehydrogenase (2 mg/ml). Die Enzymsuspensionen sind unverdünnt zu verwenden. Bei 4 ° C beträgt die Haltbarkeit 1 Jahr.

Bestimmungsansatz

In dest. H_2O-gespülte Reagenzröhrchen werden nacheinander pipettiert:

3,00 ml Puffer
0,20 ml Probe bzw. Weinverdünnung mit höchstens 50 mg Milchsäure/l
0,20 ml NAD-Lösung

Nach Mischen wird die Extinktion E_1 bei 340 nm gemessen, hierauf Zusatz von

0,02 ml L-LDH
0,02 ml D-LDH

Die Reagenzgläser werden geschwenkt, mit einer Folie (z. B. Parafilm) verschlossen und während genau 60 Minuten bei 25 ° C im Wasserbad inkubiert. Hierauf wird die Extinktion erneut gemessen (E_2). Es sind gleichzeitig mindestens 3 Nullproben — Wasser anstelle lactathaltiger Proben — mitzuführen; die hiefür erhaltene Extinktionsdifferenz E_2—E_1 wird als Blindwert von den Extinktionsdifferenzen der lactathaltigen Ansätze abgezogen.

Berechnung: Aus

$$\mu \text{ Mole Milchsäure/ml Probe} = \frac{\Delta E \cdot V}{\varepsilon \cdot d \cdot v}$$

ergibt sich für ε = 6,22 cm² / μ Mol und λ = 340 nm, Probenmenge (v) = 0,2 ml, Reaktionsvolumen (V) = 3,42 ml, Schichtdicke (d) = 1 cm:

$$\text{mg gesamte Milchsäure/l} = \Delta E \cdot 247{,}65$$

Zur Ueberprüfung wurden eine Anzahl hiesiger Rot- und Weißweine nach drei Methoden auf ihre Milchsäuregehalte untersucht; miteinander verglichen wurden folgende Verfahren:

1. Bestimmung unter Abtrennung der Säuren an Anionenaustauschern (6), $Ca(OH)_2$- und $CuSO_4$-Behandlung der Eluate und darauffolgende *Lieb-Zacherl*-Oxydation (4),
2. die hier beschriebene enzymatische L(+)- und D(—)-Lactatbestimmung und
3. die *Lieb-Zacherl*-Methode in der Modifikation nach *Koch* und *Bretthauer* (2).

In der nachstehenden Tabelle sind die an 21 Weinen ermittelten Ergebnisse zusammengefaßt.

Milchsäurebestimmungen an Weinen. Vergleich dreier Methoden

Nr.	Weine	Gehalte an gesamter (L[+]- und D[—]—) Milchsäure		
		Ionenaustauscher-Methode (1) g/l	Enzymatische Methode (2) g/l	Methode nach Koch und Bretthauer (3) g/l
	Rotweine:			
2	Trasadinger, 1966	3,41	3,47	4,23
21	Gamay Rutilant, 1966	2,40	2,24	3,70
22	Salvagnin, 1966	2,40	2,32	4,76
31	Rouge de Diolly, Pully, 1966	2,67	2,59	3,26
40	Pinot noir, Pully, 1966	4,10	3,99	4,91
72	Merlot, 1966	2,04	1,99	2,74
73	Merlot Viti, 1966	2,25	2,14	2,82
74	Nostrano, 1965	2,77	2,67	3,30
85	Twanner, 1966	4,37	4,43	4,91
	Weißweine:			
13	Lutry, 1966	2,48	2,54	3,71
14	Johannisberg de Sion, 1966	2,87	2,60	4,48
16	Château la Bâtie, 1966	2,86	3,07	4,33
18	Château de Luins, 1966	2,30	2,30	3,35
19	St. Eloi, 1966	2,31	2,28	3,34
20	Fendant de Sion, 1966	2,61	2,42	4,16
29	Perle d'Alzey, Pully, 1966	2,55	2,48	3,39
50	Ermitage, Spätlese, 1966	2,55	2,59	4,19
51	Malvoisie, Spätlese, 1966	2,06	2,08	4,41
57	Ermitage, 1966	2,57	2,53	3,76
81	Tokajer, Spätlese, 1966	4,07	3,76	4,86
82	Auxerrois, 1966	2,33	2,46	3,16

Die mit den Methoden 1 und 2 erhaltenen Resultate zeigen gute Uebereinstimmung; der Tendenz nach lieferte das enzymatische Verfahren geringfügig — im Mittel um 1,6 % — tiefere Werte als die Ionenaustauscher-Methode. Daß die Bestimmung nach *Koch* und *Bretthauer* bei vergorenen Getränken viel zu hohe Werte vortäuscht, bestätigt sich hier erneut; im Durchschnitt lagen die entsprechenden Zahlen nahezu 50 % über den tatsächlichen Gehalten.

Auf Grund dieser ersten Ergebnisse betrachten wir die enzymatische Methode als vielversprechendes Verfahren, um Gesamtmilchsäurebestimmungen in Weinen und weiteren Getränken rasch und genau auch an größeren Probenserien — z. B. 25 Bestimmungen je Person und Halbtag — durchzuführen. Die Methode dürfte geeignet sein, die bislang in Getränkelaboratorien üblichen schwerfälligen oder ungenauen Verfahren weitgehend zu ersetzen. Wir beabsichtigen, in nächster Zeit weitere vergleichende Untersuchungen anzustellen.

Zusammenfassung

An 21 Weinen wurden die Milchsäuregehalte mit drei Methoden bestimmt. Das dabei erstmals angewendete enzymatische Verfahren gestattete, die Milchsäuregehalte einfach, rasch und genau zu erfassen.

Résumé

La teneur en acide lactique de 21 vins a été déterminée à l'aide de trois méthodes. La méthode enzymatique employée pour la première fois a permis un dosage simple, rapide et précis.

Summary

21 wines have been assayed with three methods for lactic acid. An enzymatic method has been used for the first time; it allowed an easy, fast and accurate determination of total lactic acid contents.

Literatur

1. *Mayer K.* und *Pause G.:* Vitis **8**, 38 (1969).
2. *Koch J.* und *Bretthauer G.:* Z. analyt. Ch. **132**, 346 (1951).
3. *Guimberteau G.* und *Peynaud E.:* Ann. Technol. agric. **15**, 303 (1966).
4. *Mayer K.* und *Pause G.:* Schweiz. Z. Obst- und Weinb. **104**, 243 (1968).
5. Anleitung der Firma Boehringer Mannheim GmbH.
6. *Dimotaki-Kourakou V.:* Méthodes O. I. V., feuille verte No. 204.