

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ И УСТАНОВЛЕНИЕ ДИАПАЗОНОВ ЕЁ ВАРЬИРОВАНИЯ

Антоненко М.В., канд. техн. наук, Агеева Н.М., д-р техн. наук, Семенова М.Н.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
(Краснодар)*

Реферат. Разработана и апробирована методика определения щавелевой кислоты для включения дополнительного определяемого показателя в ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза.

Метод измерений был основан на разделении и количественном определении компонентов пробы посредством высокоэффективного капиллярного электрофореза (ВЭКЭ) под действием электрического поля в кварцевом капилляре в условиях, способствующих подавлению влияния посторонних веществ. Рекомендуется при проведении научно-исследовательских работ для испытания образцов алкогольных и безалкогольных напитков, вин и виноматериалов на содержание щавелевой кислоты.

Ключевые слова: вино, капиллярный электрофорез, щавелевая кислота.

Summary. A method for determining oxalic acid has been developed and tested to include an additional determinable indicator in GOST R 52841-2007 Wine products. Determination of organic acids by capillary electrophoresis.

The measurement method was based on the separation and quantitative determination of the sample components by means of high-efficiency capillary electrophoresis (HECE) under the action of an electric field in a quartz capillary under conditions conducive to the suppression of the influence of foreign substances. This method is recommended to test samples of alcoholic and non-alcoholic beverages, wines and wine production for oxalic acid content.

Key words: wine, capillary electrophoresis, oxalic acid.

Введение. Метод капиллярного электрофореза основан на разделении компонентов в зависимости от их электрофоретической подвижности [1-3] и является перспективным методом определения катионов, органических кислот [4-7], витаминов [8] в образцах различной природы, таких как: почвы, пищевая продукция [9], винодельческая продукция [10-13].

В ягодах винограда содержится значительное количество винной и яблочной кислот, также присутствуют лимонная, янтарная и щавелевая кислоты. Наличие органических кислот подавляет развитие микроорганизмов и создает благоприятную среду для жизнедеятельности винных дрожжей. Соотношение органических кислот и сахаров создает характерный вкус виноматериалов. Поэтому кислотность – важный показатель химического состава и вкусовых свойств винодельческой продукции [14].

Как показано в исследовании [15], на содержание и соотношение кислот, в том числе щавелевой, в винограде и виноматериалах влияют как погодные условия года, так и почвенно-климатический комплекс на участке сбора. Щавелевая кислота в виде кристаллов присутствует в клеточной оболочке незрелого винограда в количестве до 0,1 г/дм³. По мере созревания ее концентрация существенно уменьшается. В виноматериалах щавелевая

кислота появляется в процессе преобразований органических кислот в цикле трикарбоновых кислот – цикле Кребса [16]. Кроме того, недобросовестные производители применяют щавелевую кислоту и ее соли для профилактики кристаллических помутнений (снижение концентрации катионов кальция). Следовательно, информация о содержании щавелевой кислоты в образцах может способствовать идентификации подлинности образцов винодельческой продукции [17-18], а также послужить критерием качества виноматериалов.

Цель исследований – разработка и лабораторная апробация методики определения щавелевой кислоты для включения дополнительного определяемого показателя в ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая.

Задачами исследования являлись разработка методики определения щавелевой кислоты в винодельческой продукции, расчет показателей прецизионности методики, установление диапазонов варьирования концентрации щавелевой кислоты в виноградном сусле и винах, с учетом выдержки.

Объекты и методы исследований. Установлены оптимальные параметры и режимы методики выполнения измерений щавелевой кислоты, а именно: рабочее напряжение 23 кВ. полярность отрицательная, длина волны детектирования 254 или 270 нм, температура термостатирования 25 °С, ввод пробы пневматический 150 мбар*с, время анализа 10 минут, кварцевый капилляр Лэфф/Лобщ = 50/60 см, ID = 75 мкм.

При подготовке проб и выполнении измерений соблюдались следующие условия: температура окружающего воздуха (23±5) °С, относительная влажность воздуха не более 80 % при 25 °С.

Прибор подготавливали к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливали рабочие параметры.

При подготовке к выполнению измерений проводили следующие работы.

1. Приготовление вспомогательных и растворов раствора ведущего электролита: раствор гидроксида натрия, массовой долей 4 %, раствор соляной кислоты, массовой долей 3,5 %, раствор дипиколиновой кислоты массовой долей 0,21 %, раствор тетраметилэтилендиамина массовой долей 2,32 %, раствор этилендиаминдиуксусной кислоты массовой долей 0,176 %, ведущий электролит.

2. Подготовка прибора и порядок проведения измерений. Перед измерением подготавливали капилляр к работе, промывая его по три минуты 3,5 % раствором соляной кислоты, затем дистиллированной водой, 4 % раствором гидроксида натрия, дистиллированной водой и далее ведущим электролитом.

Капилляр промывали каждый раз при включении прибора. Между проведением измерений капилляр промывали ведущим электролитом в течение 2 мин. Результаты первого измерения отбрасывали. Содержимое одной пробирки с ведущим электролитом использовали для выполнения не более пяти измерений. При проведении анализа уровни жидкости в виалах с ведущим электролитом на входе и выходе капилляра должны быть одинаковыми.

При сильном загрязнении капилляра, которое может проявляться в искажении электрофореграммы, а также, если время миграции определяемого компонента отличалось более чем на 5 % от установленных градуировочных характеристик, необходимо повторение начальной промывки.

Определение щавелевой кислоты в градуировочном растворе или исследуемой пробе проводили путем пневматического дозирования проб (30 мБар, 5 с) и регистрировании полученных данных в течение 15 минут в виде электрофореграмм. Процедуры градуировки и анализа исследуемых проб проводили при одинаковых рабочих параметрах прибора.

3. Приготовление градуировочных растворов. Основной градуировочный раствор – щавелевой кислоты концентрацией 1 г/дм³. Рабочие градуировочные растворы – растворы с массовой концентрацией 0,001, 0,005, 0,010, 0,025 и 0,050 г/дм³.

4. Градуировка прибора. Рабочие градуировочные растворы массовой концентрации 0,001, 0,005, 0,010, 0,025 и 0,050 г/дм³ отбирали мерной пипеткой в объеме 0,8 см³ в пробирки Эппендорфа и все растворы центрифугировали 4 мин при 6000 об/мин для удаления растворенного воздуха.

Градуировочную характеристику получали, обрабатывая экспериментальные данные при помощи программного обеспечения. Градуировка признавалась удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, был не менее 0,99.

На рисунке 1 представлена электрофореграмма анализа стандартного раствора щавелевой кислоты массовой концентрацией 0,050 г/дм³.

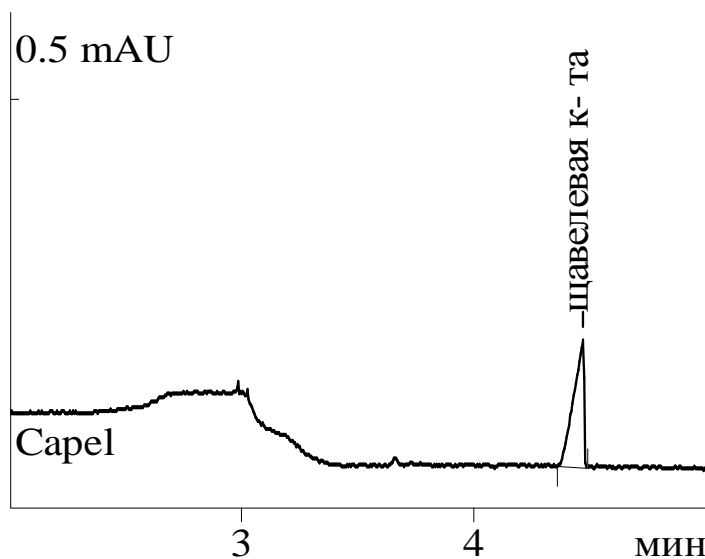


Рис. 1 Электрофореграмма стандартного раствора щавелевой кислоты

На рисунке 2 представлена электрофореграмма анализа винопродукции.

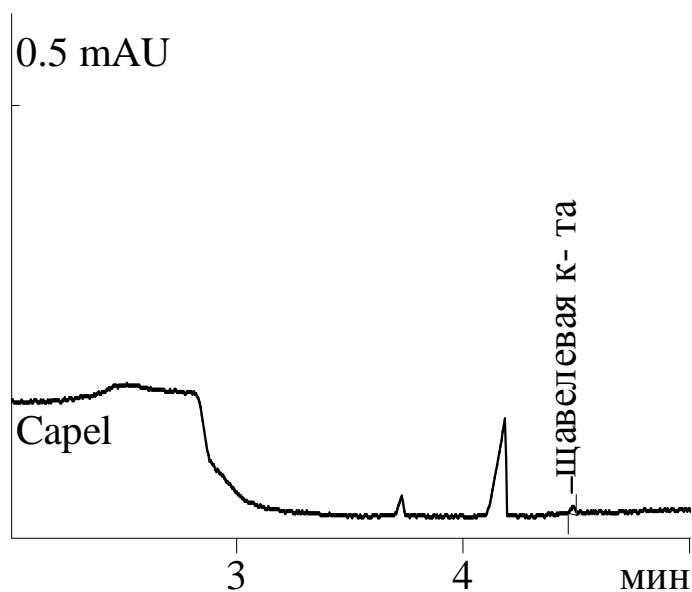


Рис. 2. Электрофореграмма виноматериала

Идентификацию пиков проводили по времени удерживания компонентов, полученных при установлении градуировочной характеристики. В случае затруднения идентифи-

кации использовали метод добавок. Для этого в пробирку Эппендорфа с анализируемой пробой вносили добавку стандарта с расчетом на увеличение площади пика на (100 ± 50) % и измерение выполняли повторно. Увеличение высоты соответствующего пика свидетельствовало о правильной идентификации. При этом на электрофореграммах возможно появление пиков неидентифицированных веществ, не мешающих проведению количественного анализа.

Обсуждение результатов. С целью установления диапазонов варьирования концентрации щавелевой кислоты в сезон виноделия 2019 года были проанализированы образцы виноградного сусла, а также различные готовые виноградные вина предприятий Краснодарского края. Результаты представлены в таблице.

Диапазоны варьирования концентрации щавелевой кислоты

Наименование	Количество образцов	Концентрация щавелевой кислоты, г/дм ³
Сусло виноградное	17	0-0,05
Сусло виноградное из гнилого винограда	5	0,04-0,10
Вино столовое сухое белое	27	0-0,02
Вино столовое сухое красное	34	0-0,02
Вино из поврежденного гнилями винограда	5	0,02-0,10

Установлены диапазоны варьирования щавелевой кислоты: до 0,05 г/дм³ в виноградном сусле и в вине произведенных из здорового винограда; до 0,1 г/дм³ в виноградном сусле и в вине, произведенного из гнилого винограда. Концентрация щавелевой кислоты имела тенденцию к снижению в течение периода ферментации, оставаясь стабильной во время выдержки вина.

Разработанный аналитический метод определения щавелевой кислоты, с использованием капиллярного электрофореза, был точным, поскольку показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) составлял 2,2-3,5 %, а предел количественного определения – 0,001 г/дм³.

На основе данных результатов сотрудниками НЦ «Виноделия» разработан СТО 00668034–114-2019 «Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение щавелевой кислоты методом капиллярного электрофореза». Установлены пределы повторяемости и воспроизводимости для определения щавелевой кислоты в винодельческой продукции. Установлены диапазоны варьирования щавелевой кислоты.

Литература

1. Беленький Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез. СПб.: Наука, 2009. 320 с.
2. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб.: Веда, 2006. 212 с.
3. Sursyakova V.V., Kalyakin S.N., Burmakina G.V., Rubaylo A.I. System peaks and optimization of anion separation in capillary electrophoresis with non-reversed electroosmotic flow. Journal of Analytical Chemistry 2012. Vol. 67(9), P. 783-789.

4. Сурсякова В.В., Калякин С.Н., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И. Использование внутреннего стандарта при определении анионов методом капиллярного электрофореза с косвенным спектрофотометрическим детектированием // Журнал Сибирского федерального университета. Химия 2009. Т. 2(1). С. 42-47.
5. Klampfl C.W., "Determination of low-molecular-mass anionic compounds in beverage samples using capillary zone electrophoresis with simultaneous indirect ultraviolet and conductivity detection". Journal of Chromatography A, 822 (1998), 117-123. A. de Villiers, "A robust capillary electrophoresis method for the determination of organic acids in wine", Eur Food Res Technol (2003), 217: 535-540.
6. Klampfl C.W. Determination of organic acids by CE and CEC methods. Electrophoresis 2007, Vol. 28, P. 3362-3378.
7. Amelin V.G., Podkolzin I.V., Tretiakov A.V. Determination of organic acids in alcoholic and nonalcoholic beverages by reversed-phase high-performance liquid chromatography. Journal of Analytical Chemistry. 2012. Vol. 67(3), P. 262-268.
8. Попкова М.А. Содержание водорастворимых витаминов в медах. Рыбное: ФГБНУ «ФНЦ пчеловодства», 2021. С. 426-431.
9. Scherer R., Rybka A.C.P., Ballus C.A., Meinhart A.D., Filho J.T., Godoy H.T. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. Food Chemistry 2012. Vol. 135, P. 150-154
10. Якуба Ю.Ф. Органические кислоты в виноградных винах и методы их определения // Ликеро-водочное производство и виноделие. 2008. № 4. С. 32-33.
11. Антоненко М.В., Гугучкина Т.И., Абакумова А.А., Антоненко О.П. Низин и методика его контроля в винах // Виноделие и виноградарство: Сб. науч. тр. ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарах» РАН». Том XLVIII. Ялта, 2019. С. 72-73. <https://elibrary.ru/item.asp?id=41203017>
12. Абакумова А.А., Антоненко М.В., Гугучкина Т.И. Метод определения антибиотиков в вине // Наука Кубани. 2018. № 2. С. 10-15.
13. Якуба Ю.Ф. Прямое определение фенилаланина, триптофана и тирозина в винах // Западская лаборатория. Диагностика материалов. 2008. Т. 74. № 2. С. 15-18.
14. Шелудько О.Н., Гугучкина Т.И., Стрижов Н.К., Брагина А.И. Кулонометрическое титрование в виноделии. Определение титруемой кислотности. Влияние сорта винограда на кривые титрования // Виноделие и виноградарство. 2009. № 4. С. 19-21.
15. Даудова Т.И., Власова О.К. Состав и содержание органических кислот в соке и винома-териалах из винограда, выращиваемого в северо-западной зоне Дагестана // Известия вузов. Пи-щевая технология. 2018. № 1. С. 28-31.
16. Родопуло А. К. Основы биохимии виноделия М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1983. 240 с.
17. Виноградные вина, проблемы оценки их качества и региональной принадлежности / Ю.Ф. Якуба [и др.] // Аналитика и контроль. 2014. Т. 18. № 4. С. 344-372.
18. Методы контроля качества и безопасности винодельческой продукции. Методические рекомендации // Т.И. Гугучкина [и др.]. Краснодар: ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2018. 59 с.