

Možnosti stanovenia organických kyselín ITP v odrodových červených vínach

663.25 663.222

Ing. JOLANA KAROVIČOVÁ, CSc., Doc. Ing. JOZEF POLONSKÝ, CSc., Doc. Ing. MILAN DRDÁK, CSc.
Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Bratislava

Kľúčové slová: *kyselina vínna, mliečna, jablčná, jantárová, octová, červené vína, izotachoforetické stanovenie*

Obsah kyselín je dôležitým činiteľom pri posudzovaní akosti vína. Pri laboratórnych rozboroch klasickými metódami získavame prehľad o obsahu prchavých kyselín bez rozlíšenia jednotlivých kyselín a o obsahu tzv. celkových kyselín.

Karboxylové kyseliny sa môžu identifikovať a stanoviť rôznymi metódami. V uplynulých rokoch bolo rôznymi autormi publikované množstvo analytických separačných metód na stanovenie zmesi kyselín. Najviac sa používajú chromatografické metódy, buď samostatne, alebo v kombinácii s inými metódami. Využíva sa plynová chromatografia [1, 2, 3], pri ktorej je príprava vzorky časovo náročná. V poslednom čase sa rozšírila vysokoúčinná kvapalinová chromatografia, prípadne v spojení s ďalšími technikami [4, 5, 6], avšak separačné časy sú väčšinou dlhé na to, aby sa v analýze potravín mohla stať rutinnou metódou. Vhodnou metódou sa uká-

zala jedna z elektroforetických metód na indentifikáciu a stanovenie katiónov alebo aniónov, a to kapilárna izotachoforéza — ITP [7, 8, 9]. V oblasti fyzikálno-chemických analytických metód sa stala kapilárna izotachoforéza vhodnou na identifikáciu a stanovenie jednotlivých organických kyselín s tým, že odstraňuje mnohé ťažkosti v porovnaní s predchádzajúcimi metódami. ITP analýzou vín sa zaoberali už práce autorov *Kaiser, K. P.* - *Hupf, H.* [10], *Farkaš, J.* - *Polonský, J.* - *Koval, M.* [11], *Průša, K.* - *Smejkal, O.* [12].

MATERIÁL A METÓDY

Použitý materiál

Na analýzu sme použili vzorky odrodových červených vín: Frankovky, Vavrínecké, Alibernet, Cabernet, Portugálske, Burgund, André. Rok výroby 1979, 1980, 1983 až

Tabuľka 1. Prehľad o analyzovaných vzorkách odrodových červených vín

Vzorka	Druh vína, ročník, výrobca
1.	Tereziánska frankovka 1979/I Rača
2.	Frankovka 1985 Želiezovce
3.	Frankovka 85/II L 77 Gbelce
4.	Frankovka 1985/I Hlohovec
5.	Račianska frankovka 1985, obchod
6.	Frankovka 1980 ÚK SÚP Oblekovice
7.	Alibernet 1985 ÚK SÚP Bratislava
8.	Cabernet Sauvignon KVÚVV
9.	Portugalské modré KVÚVV
10.	Tereziánska frankovka 1985 Rača
11.	Frankovka /I KVÚVV
12.	Frankovka KVÚVV
13.	Levická frankovka 1986, obchod
14.	Vavřínecké 83/I Hodonín
15.	Burgund- modré 1985 ÚK SÚP Bratislava
16.	Vavřínecké 85/III Hlohovec
17.	André 1985 L 78 Gbelce
18.	Frankovka 1983/I Hlohovec
19.	Vavřínecké 84/I
20.	Vavřínecké 1984 VŠK Želiezovce
21.	Vavřínecké 1983
22.	Frankovka Hlohovec
23.	Levická frankovka 247186, obchod
24.	Svätovavřínecké 1980 ÚK SÚP Oblekovice
25.	Vavřínecké 85/I Gbelce

1985. Vzorky boli analyzované v roku 1986. V tab. 1 je uvedený prehľad analyzovaných vzoriek odrodových červených vín.

Použitá technika

Vzorky vína boli zriedené a nadávkované do ITP analyzátoru. Analýzy boli robené v dvojkolónovom izotachoforetickom analyzátoe pri hnacom prúde 200 μ A v predseparačnej kolóne (0,8 mm priemer) a 40 μ A v analytickej kolóne (0,3 mm priemer) za použitia vodivostného detektora.

Zloženie použitých elektrolytov pre ITP je uvedené v tab. 2. Čas analýzy sa pohyboval v závislosti od aplikovaných elektrolytov v intervale 20 až 30 minút.

Tabuľka 2. Zloženie elektrolytov pre ITP

	I.	II.
Vodiaci elektrolyt		
HCl (mol . l ⁻¹)	10 ⁻²	8 . 10 ⁻³
protiión	β -alanín	6-aminohexánová kyselina
pH	3,8	5,0
ión (Ca ²⁺) (mol . l ⁻¹)	—	10 ⁻³
aditívum: polyvinylpyrolidón	0,1 %	0,1 %
Zakonzujúci elektrolyt		
anión	acetát	hexanoát
koncentrácia (mol . l ⁻¹)	5 . 10 ⁻³	10 ⁻²
protiión	Tris (pH 4)	—

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Predpokladom úspešnosti stanovenia jednotlivých kyselín vo vzorkách je ich optimálna separácia. Na základe zistenia prítomnosti jednotlivých kyselín bola urobená kvantitatívna analýza metódou analytickej kalibračnej krivky. Tieto boli štatisticky zhodnotené lineárnou regresiou pre 95 % pravdepodobnosť. Správnosť výsledkov sme testovali buď za použitia smerodajnej odchýlky pomocou Studentovho testu t , alebo za použitia rozpätia pomocou Lordovho testu u_n [13]. Testy potvrdzujú, že rozdiel $|\bar{z} - \bar{x}|$ nie je štatisticky významný. Výsledky sú zafarbené len náhodnou chybou. (Napríklad pri kyseline vínnej testovanie testom t na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ je $t = 1,28 < t_{0,05} = 2,776$ a testom u_n ; $u_n = 0,425 < u_{n,0,05} = 0,507$).

Na vzorkách vín sme sa usilovali o optimálne rozdelenie sledovaných zložiek v závislosti od pH vodiaceho elektrolytu. Dobré výsledky sme získali v I. systéme pri

pH 3,8. Vzhľadom na to, že ako zakončujúci elektrolyt bola použitá kyselina octová, nebolo možné kyselinu octovú vo vzorkách stanoviť. Podstatnú časť kyselín vo víne označených ako „prchavé kyseliny“ tvorí kyselina octová, z toho dôvodu sme volili iný operačný systém (II.), ktorý umožňuje jej stanovenie. Pri systéme II. je vyššia disociácia organických kyselín a tým sú zvýšené aj ich pohyblivosti.

V tab. 3 je prehľad o stanovenom obsahu kyselín: vínnej, mliečnej, jablčnej, jantárovej a octovej ITP v niektorých vybraných vzorkách odrodových červených vín.

Tabuľka 3. Obsah kyselín stanovený ITP vo vzorkách odrodových červených vín

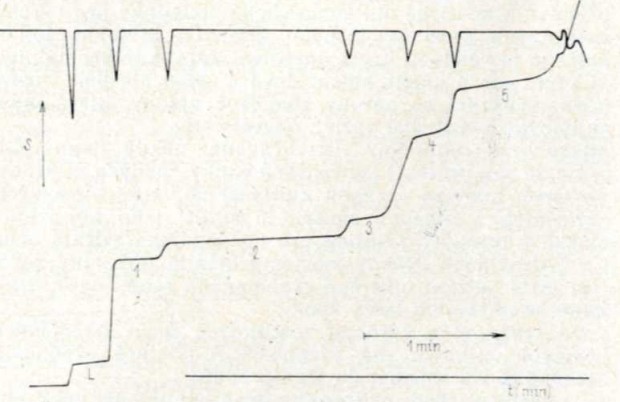
Vzorka	Stanovený obsah kyselín (g . l ⁻¹)				
	vínna	mliečna	jablčná	jantárová	octová
1.	6,89	2,43	0,39	0,83	—
2.	7,52	4,31	0,57	—	—
3.	10,67	0,43	0,29	0,65	—
4.	9,37	1,07	1,93	stopy	—
5.	5,94	4,07	stopy	0,65	—
6.	3,05	0,59	7,55	—	—
7.	5,02	0,60	8,22	—	—
8.	4,95	2,52	2,89	—	—
9.	4,51	0,82	7,54	—	—
10.	1,38	4,68	—	—	—
11.	7,59	2,25	—	1,06	—
12.	9,01	3,56	—	0,83	—
13.	2,37	4,0	—	0,71	1,10
14.	1,19	4,68	—	0,71	—
15.	7,04	1,68	—	stopy	—
16.	6,17	2,79	—	1,40	—
17.	9,41	1,69	—	stopy	—
18.	11,15	3,29	—	0,83	2,80
19.	0,91	3,63	0,44	0,86	0,41
20.	7,04	2,50	0,40	stopy	0,73
21.	3,70	2,90	0,18	0,60	1,25
22.	6,80	3,90	0,06	—	0,99
23.	6,72	0,51	3,06	—	3,02
24.	1,03	0,41	8,38	0,20	2,03
25.	3,95	0,30	9,0	stopy	—

Okrem izotachoforetického stanovenia organických kyselín bola urobená aj potenciometrická titrácia k príslušnej vzorke vyjadrená ako kyselina vínna. Obsah kyselín stanovený potenciometricky po prepočte na kyselinu vínnu bol podstatne nižší ako celkový obsah kyselín stanovený izotachoforeticky po prepočte na kyselinu vínnu. Príčina je v tom, že potenciometricky sa stanovia len voľné kyseliny nachádzajúce sa vo vzorkách a kyseliny, ktoré sa viažu vo forme solí sa nestanovia.

Na obr. 1 je uvedený izotachoforetický záznam vzorky Vavřínecké 84/I.

ZÁVER

Analytické stanovenia ukázali, že kapilárna izotachoforéza je výhodná na analýzu zastúpenia jednotlivých



Obr. 1. Izotachforeogram červeného odrodového vína Vavřínecké 84/I.

Injektované množstvo 30 μ l, riedenie 1 ml v 50 ml. 1. kyselina vínna, 2. kyselina jablčná, 3. kyselina jantárová, 4. kyselina octová, 5. kyselina mliečna, L — chlorid.

organických kyselín v červených odrodových vínach. Čas trvania analýzy sa pohyboval od 20 do 25 minút pri aplikácii II. operačného systému a výsledky sme získavali reprodukovateľné (hodnota relatívnej smerodajnej odchýlky sa pohybovala od 1,5 % do 2,2 % pre jednotlivé kyseliny) a časovo menej náročne. Kapilárna izotachoforéza môže byť dobre využitá i ako medzioperačná analytická metóda na sledovanie priebehu výroby vína.

Literatúra:

- [1] SUYAMA, K., HORI, K.: J. Chromatogr. **174**, 1979, s. 234.
- [2] CASSIDY, R. M., HARPUR, R., ELCHUK, S.: J. Chromatogr. **190**, 1980, s. 188.
- [3] WOOD, A. H., LINDSAY, R. C.: J. Chromatogr. Sci., **18**, 1980, s. 273.
- [4] RAPP, A., ZEIGLER, A.: Dtsch. Lebensm. Rundsch., **75**, 1979, s. 396.
- [5] THURMAN, E. M.: J. Chromatogr. **185**, 1979, s. 625.
- [6] BUSSELE, N. E., MILLER, R. A.: J. Liq. Chromatogr. **2**, 1979, s. 697.
- [7] BECKERS, J. L., EVERAERTS, F. M.: J. Chromatogr. **71**, 1972, s. 380.
- [8] KANIANSKY, D., EVERAERTS, F. M.: J. Chromatogr. **148**, 1978, s. 441.
- [9] HIROKAWA, T., KISO, Y.: J. Chromatogr. **260**, 1983, s. 225.
- [10] KAISER, K. P., HUPT, H.: Dtsch. Lebensm. Rundsch., **75**, 1979, s. 346.
- [11] FARKAŠ, J., KOVAČ, M., POLONSKÝ, J.: Bulletin PV, **XXI(1)**, 1982, s. 25.
- [12] PRŮŠA, K., SMEJKAL, O.: Kvas. prům. **29**, 1983, s. 7.
- [13] ECKSCHLAGER, K., HORSÁK, I., KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. 1. vyd., Praha 1980.

Karovičová, J. - Polonský, J. - Drdák, M.: Možnosti stanovenia organických kyselín kapilárnou izotachoforézou v odrodových červených vínach. Kvás. prům. **33**, 1987, č. 10, s. 292—294.

V práci sa sledoval obsah organických kyselín izotachoforézou v červených odrodových vínach. Vo vzorkách boli stanovené kyseliny vínna, mliečna, jablčná, jantárová a octová.

Na optimálne rozdelenie sledovaných zložiek sa osvedčil elektrolytický systém:

vodiaci elektrolyt: $8 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ HCl + 6-amino-hexánová kyselina (pH 5) + $1 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ CaCl₂

zakončujúci elektrolyt: $1 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ kyselina hexánová

Каровичова, Я. - Полонский, И. - Дрдэк, М.: Возможности определения органических кислот ИТП в сортах красных вин. Квас. прум. **33**, 1987, № 10, стр. 292—294.

В статье приводится определение содержания органических кислот в сортах красных вин методом капиллярного изотакхофореза. В пробах были определены винная, молочная, яблочная, янтарная и уксусная кислоты.

Для наиболее оптимального разделения установленных компонентов была определена следующая электролитическая система: ведущий электролит: $8 \cdot 10^{-3}$ мол.л⁻¹ хлористоводородная кислота + ε — аминокaproновая кислота (pH 5) + $1 \cdot 10^{-3}$ мол.л⁻¹ CaCl₂; оканчивающий электролит: $1 \cdot 10^{-2}$ мол.л⁻¹ капроновая кислота.

Karovičová, J. - Polonský, J. - Drdák, M.: Possibilities of Organic Acid Determination by ITP in Red Type Wines. Kvas. prům. **33**, 1987, No. 10, pp. 292—294.

The content of organic acids was analysed in red type wines by isotachophoresis. In the samples there were determined tartaric, lactic, malic, succinic and acetic acids. For the optimal separation of analysed components this electrolytic system, described itself:

leading electrolyte: $8 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ HCl + ε — Amino-capronic acid + $1 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ —CaCl₂ (pH 5)

terminating electrolyte: $1 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ capronic acid

Karovičová, J. - Polonský, J. - Drdák, M.: Möglichkeiten der Bestimmung organischer Säuren in Sortenrotweinen mittels ITP. Kvas. prům. **33**, 1987, č. 10, S. 292—294.

Die Autoren analysierten den Gehalt der organischen Säuren in Sortenrotweinen. Man bestimmte Wein-, Milch-, Apfel-, Bernstein- und Essigsäure in den Proben mit Hilfe der Isotachophoresis. Für die optimale Trennung von bestimmten Bestandteilen bewährte sich dieses elektrolytisches System:

Leitelektrolyt: $8 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ HCl + ε . Aminokaproensäure (pH 5) + $1 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ CaCl₂

Folgeelektrolyt: $1 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ Kapronsäure