

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРИДА, СУЛЬФАТА, НИТРАТА, НИТРИТА В ВИНАХ

Ю.Ф. Якуба, М.Г. Марковский

*Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства 350901, г. Краснодар, ул. 40-лет Победы, 39
globa2001@mail.ru*

Поступила в редакции. 7 июня 2011 г.

Агротехника и технологические приемы приводят к неоднозначному накоплению хлоридов, сульфатов, нитритов и нитратов в готовой продукции. Принятие нормативного документа, регламентирующего определение данных анионов позволит решить некоторые медико-биологические проблемы, связанные с потреблением вина и его качеством. В связи с этим исследована возможность применения системы капиллярного электрофореза серии «Капель» для определения хлорида, сульфата, нитрита и нитрата. Проведено исследование подвижности анионов в зависимости от состава ведущего электролита. Обсуждены условия работы и показаны преимущества применения системы капиллярного электрофореза при анализе специальных вин. В результате выполнения работы предложен методический подход по определению хлорида, нитрита, нитрата и сульфата в винах, подобраны условия анализа и состав ведущего электролита для разделения данных анионов.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, ведущий электролит, вино, анионы, градуировка

Якуба Юрий Федорович, канд. техн. наук, доцент, заведующий проблемно-исследовательской лабораторией Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Россельхозакадемии.

Область научных интересов автора: высокоэффективный капиллярный электрофорез, капиллярная газовая хроматография, аналитическая химия, химия пищевых производств, технология виноделия и ликеро-водочных изделий.

Автор 211 публикаций.

Марковский Михаил Григорьевич, канд. техн. наук, научный сотрудник научного центра виноделия Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Россельхозакадемии.

Область научных интересов: высокоэффективный капиллярный электрофорез, капиллярная газовая хроматография, аналитическая химия, метрология, технология виноделия.

Автор 46 публикаций.

Введение

Основными неорганическими анионами специальных и натуральных вин являются хлорид и сульфат, причем концентрация сульфата постепенно повышается за счет окисления сульфит-иона [1]. Источником сульфит-иона является сернистый ангидрид, используемый как консервант в виноделии в дозировках до 200 мг/дм³. Избыточные количества хлорида и сульфата искажают вкус вина: придают солоноватые и горькие оттенки. Важность определения нитрата и нитрита непосредственно связана с их опасностью для здоровья человека. Вслед-

ствие ненормированного использования удобрений, подкормок, различных видов стимуляторов виноградной лозы и процесса брожения сусле возможно появление опасных концентраций нитрата и нитрита в готовом вине. Наряду с известными методами измерений массовых концентраций хлорида, сульфата, нитрита и нитрата в винах [2], известно применение для этих целей методик капиллярного электрофореза, тем более что существует несколько электрофоретических методик для анализа природных, минеральных и промышленных вод [3, 4]. Особенность определения этих анионов в натуральных виноградных винах состоит в том, что

концентрации нитрита и нитрата (1-10 мг/дм³) приходится измерять на фоне значительного содержания хлорида (до 100 мг/дм³) и сульфата (до 400 мг/дм³). При прямых электрофоретических измерениях по существующим методикам, например, для анализа питьевой воды [5], возможно наложение пиков анионов, что фактически требует (ввиду значительной разницы в концентрациях) выполнения нескольких последовательных определений на разных ведущих электролитах. Таким образом, требуется оптимизация метода измерения, которая позволит на одном составе ведущего электролита выполнить определение существенно различающихся концентраций исследуемых анионов в пробе вина [6].

Содержание нитрата согласно требованиям СанПиН 2.3.2.1087-01 не должно превышать 150 мг/дм³; массовые концентрации хлорида, сульфата и нитрита в винах не регламентируются. Целью настоящей работы является разработка оперативной и достоверной методики определения данных анионов посредством капиллярного электрофореза.

Варианты решения – меньшее разбавление пробы, буфер с большой ионной силой на основе оригинальных компонентов.

Экспериментальная часть

Использовали систему капиллярного электрофореза «Капель-104РТ» с характеристиками: фотометрический детектор (254 нм); кварцевый капилляр с внешним полиимидным

покрытием (внутренний диаметр 75·10⁻⁶ м, эффективная длина 0,5 м; водное термостатирование 22 °С).

Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения «Мультихром для Windows, версия 1.5» (ЗАО «Амперсенд», г. Москва).

Использовали стандартные образцы растворов анионов хлорид-иона ГСО 8747-2006, нитрит-иона ГСО 7792-2000, нитрат-иона ГСО 7793-2000, сульфат-иона ГСО ГСО 7683-99, бихромат калия х.ч. (Диа М), гексаметилендиамин х.ч., HCl х.ч., NaOH х.ч. (Вектон), спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 51652-2000.

Подготовка проб модельных смесей анионов и испытуемых образцов заключалась в центрифугировании (Eppendorf Minispin, максимальная скорость вращения 13000 оборотов/мин) в течение 3 мин.

Для оптимизации разделения и количественного определения массовой концентрации хлорида, нитрата, нитрита и сульфата применяли косвенное детектирование и несколько вариантов ведущего электролита с увеличенной ионной силой.

Для приготовления ведущего электролита косвенного детектирования на основе хроматионов предложено применение не традиционно используемого хромата, а бихромата. Его гидролиз в щелочной среде ведущего электролита приводит к образованию хромата, но вносит лишь половинное количество сопутствующих катионов, что ограничивает нежелательный рост тока в ходе анализа. В качестве основания (регулятора pH ведущего электролита) выбран

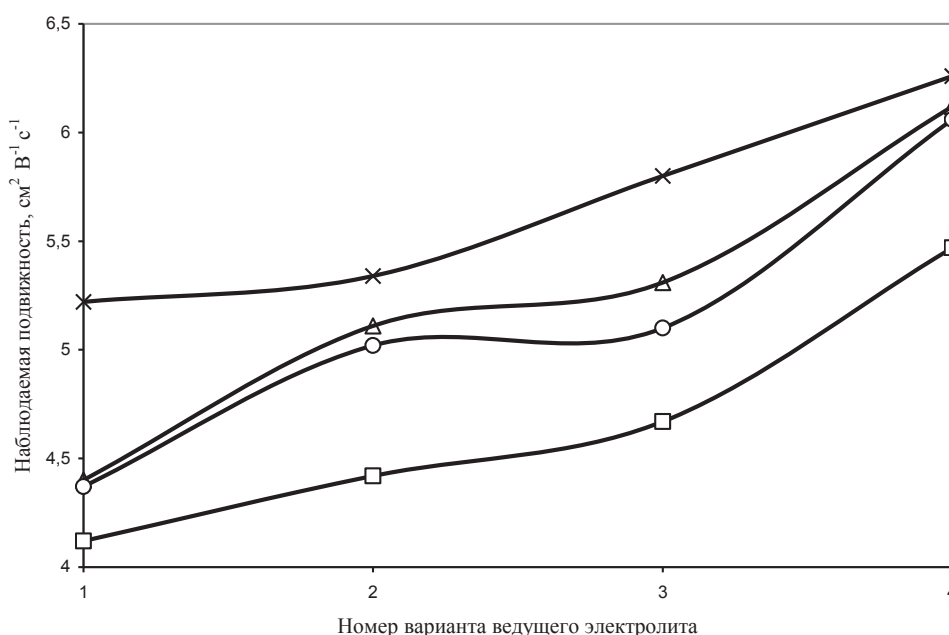


Рис. 1. Наблюдаемая подвижность (x10⁻⁴) анионов, в зависимости от состава ведущего электролита бихромат калия – гексаметилендиамин (напряжение 8 кВ; № 1 по 5 мМоль/дм³; № 2 по 7 мМоль/дм³; № 3 по 10 мМоль/дм³; № 4 по 12 мМоль/дм³). Составляющие каждого варианта ведущего электролита были смешаны в соотношении 1:1

гексаметилендиамин, как достаточно сильное основание.

Градуировочные растворы 1, 10, 50, 100 и 500 мг/дм³ готовили на 16 %-ном водном растворе этилового ректифицированного спирта, используя стандартные образцы соответствующих анионов. Применение данной концентрации спирта позволило обеспечить стабильность градуировочных растворов. Дополнительные исследования показали, что уменьшение концентрации этилового спирта до 6-8 % при измерении реальных проб практически не оказывает влияния на точность измерения анионов. Перед каждым измерением капилляр в течение двух минут последовательно промывали 1М соляной кислотой, дистиллированной водой, 1 М гидроксидом натрия и дистиллированной водой. После этого капилляр промывали ведущим электролитом в течение 2 мин. Результаты оптимизации состава ведущего электролита для разделения модельной смеси показаны на рис. 1.

Оптимальное разделение модельной смеси получено при использовании ведущего электролита согласно варианта № 3 (подпись рис. 1). Исходные растворы бихромата калия и гексаметилендиамина хранили при комнатной температуре не более 30 суток с момента приготовления.

Оптимальное напряжение для разделения модельной смеси, охарактеризованное подвижностью анионов, составило 8 кВ. Подбор напряжения для выполнения определения при установленном составе ведущего электролита позволил регулировать длительность определения и в то же время обеспечить необходимое качество разделения. Данные рис. 1 показали, что для разделения указанной смеси принципиальное значение имеет состав ведущего элек-

тролита: уменьшение концентраций составляющих электролита не позволяет обеспечить разделение компонентов, увеличение – приводит к значительному росту силы тока, что приводит к увеличению шумов на базовой линии электрофореграммы и снижению чувствительности определения, и не позволяет получить полное разделение компонентов. Ориентировочное время выхода (мин) анионов для оптимизированного состава ведущего электролита и напряжении «минус 8 кВ»: хлорида – 10.9, нитрата – 11.8, нитрита – 12.3, сульфата – 13.4. Электрофореграмма градуировочной смеси анионов показана на рис.2.

Коэффициенты чувствительности относительно хлорида (1,0) составили для нитрата – 2.0, нитрита – 2.1, сульфата – 1.5. В связи с этим предел чувствительности по нитрату и нитриту составил 0.5 мг/дм³, для хлорида и сульфата – 0.2 мг/дм³. Линейность сохранялась до 500 мг/дм³ включительно, что позволяло использовать минимальную кратность разбавления испытуемых проб вина. Наблюдаемая электрофоретическая подвижность анионов составила (10⁻⁴ см²В⁻¹с⁻¹): хлорида – 5.73, нитрата – 5.31, нитрита – 5.06, сульфата – 4.70. При выборе напряжения руководствовались значением максимально допустимого тока на приборе и длительностью анализа, отдавая предпочтение первому с целью улучшения воспроизводимости определений.

В оптимизированных условиях анализа проведено исследование не менее 200 реальных проб: вино или виноматериал разбавляли в 2 раза дистиллированной водой, центрифугировали 3-5 мин при 6000 оборотах/мин, переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 5 с. Устанавливали время

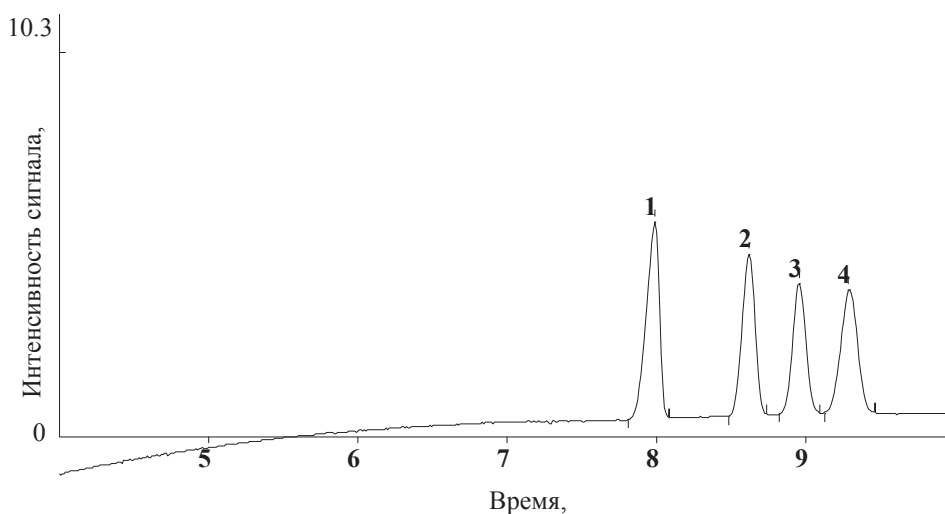


Рис. 2. Электрофореграмма градуировочной смеси анионов концентрацией хлорида и сульфата по 100 мг/дм³, нитрита и нитрата по 200 мг/дм³ в оптимальных условиях анализа (ведущий электролит состава №3 согласно подписи рис. 1, напряжение «минус 8 кВ»; 1 – хлорид, 2 – нитрат, 3 – нитрит, 4 – сульфат)

Таблица

Проверка правильности и воспроизводимости результатов определения анионов ($n = 5$, $\alpha = 0,05$)

Анион	Введено	Найдено, мг/дм ³	Среднеквадратичное отклонение, %
Хлорид	5	4,8 ± 0,2	2,8
	20	19,8 ± 0,6	2,1
Нитрит	5	4,9 ± 0,2	2,8
	20	19,7 ± 0,6	2,1
Нитрат	5	4,9 ± 0,3	3,5
	20	20,2 ± 0,5	1,8
Сульфат	5	5,1 ± 0,3	3,5
	20	19,8 ± 0,5	1,8

анализа 15 мин, напряжение «минус 8 кВ», сила тока составляла 40 ± 3 мкА. Установлено, что определению не мешают другие ионные соединения вина. Анализируемую пробу дозируют не менее двух раз и регистрируют электрофореграммы. В случае изменения времени миграции анионов пробы вина применяют метод добавок. Характеристическое содержание (мг/дм³) анионов в виноградных вин, производимых в РФ, для хлорида находилось в диапазоне 10-60, нитрата – 0-5, нитрита – менее 0,5; сульфата – 50-300.

Правильность результатов определения анионов, получаемых по предлагаемой методике, подтверждена способом введено-найденно (таблица).

Выводы

Влияние почвенных условий, особенно засоленности почвы, применение сернистого ангидрида, или солей сернистой кислоты в качестве консервантов приводят к неоднозначному

накоплению изучаемых анионов. Знание исходного содержания исследуемых анионов в виноматериалах позволит оперативно изменять технологический процесс и контролировать качество продукции (в первую очередь вкус). Обнаружение избыточных количеств нитратов и нитритов может служить основанием для признания несоответствия продукции требованиям безопасности и изъятию ее из торговой сети. В результате выполнения работы предложен методический подход для определения хлорида, нитрита, нитрата и сульфата в винах, подобраны условия анализа и состав ведущего электролита для разделения данных анионов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеева Н.М., Гугучкина Т.И. Идентификация и экспертиза виноградных вин и коньяков. Краснодар: АФ «Центральная», 2008. 174 с.
2. Вина и алкогольные напитки. Директивы и Регламенты ЕС. М.: ИПК Издательство стандартов, 2000. 616 с.
3. Беленький Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез. С.-Пб.: Наука, 2009. 320 с.
4. Baryla N.E., Lucy Ch.A. Semi-permanent surfactant coatings for inorganic anion analysis in capillary electrophoresis // J. Chromatogr. A. 2002.V. 956. P.271-277.
5. ГОСТ Р 52181-2003 Вода питьевая. Определение содержания анионов методами ионной хроматографии и капиллярного электрофореза. М., 2003. 21 с.
6. Агеева Н.М., Марковский М.Г., Якуба Ю.Ф. Определение содержания основных неорганических анионов в винопродукции методом капиллярного электрофореза // Изв. вузов. Пищевая технология. 2003. №2-3. С. 41-42.

DETERMINATION ELECTROPHORETICAL OF CONCENTRATION CHLORIDE, SULFATE, NITRATE, NITRITE IN THE WINE

Yu. F. Yakuba, M.G. Markovsky

*North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture
of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 39, 40 let Pobedy st., Krasnodar, 350901
globa2001@mail.ru*

Agricultural methods and the technological methods result in ambiguous accumulation of studied anions in finished products. The acceptance of the normative document regulating definition of chloride, sulfate, nitrite, nitrate will allow to decide some biomedical problems, bound with consumption fault and its quality.

In this connection, the feasibility of a system of capillary electrophoresis of a series "Capel" for definition of chloride, sulfate, nitrite, nitrate is investigated. The research of motility of anions is conducted depending on a structure of a leading electrolyte. The working conditions are discussed and are rotined of advantage of application of a system of capillary electrophoresis at the analysis of special wines. As a result of fulfilment of activity the methodical approach on definition of chloride, nitrite, nitrate and sulfate in faults is offered, the conditions of the analysis and structure of a leading electrolyte for separation of the data of anions pick up.

Keywords: capillary electrophoresis, leading electrolyte, wine, anions, graduation