

Stanovenie kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch rýchlou fotometrickou metódou a izotachoforézou

EVA KOLESÁROVÁ – ELENA BUBELÍNIOVÁ

Súhrn. Sledoval sa vplyv niektorých parametrov ovplyvňujúcich separáciu kyseliny vínnej z kvasničných vínnych kalov pri jej stanovení rýchlou fotometrickou metódou. Zistilo sa, že na uvedený proces vplýva čas zahrevu vzorky, množstvo kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch a riedenie kvasničných vínnych kalov. Navrhli sa optimálne podmienky separácie. Fotometrická metóda sa porovnávala s metódou kapilárnej izotachoforézy po predchádzajúcom čistení na ionexe. Z výsledkov vyplýva, že fotometrickú metódu možno v praxi aplikovať aj pri stanovení kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch.

Na stanovenie kyseliny vínnej (KV) vo víne sa v súčasnosti používajú fotometrické [1], elektromigračné (izotachoforéza) [2] a chromatografické (vysokotlaková kvapalinová chromatografia, GLC metóda po esterifikácii [3] a iónexová chromatografia [4]. Aplikácia týchto metód na stanovenie KV a jej solí v druhotných surovinách vinárskeho priemyslu (výlisky, kvasničné vínne kaly – KVK) je možná iba po separácii uvedenej kyseliny zo suroviny. Na tento proces vplýva veľa faktorov. Je to predovšetkým pH, teplota, iónová sila, čas vymývania KV z KVK, obsah KV v KVK, obsah povrchovoaktívnych látok a riedenie [5]. Pretože iónová sila a obsah povrchovoaktívnych látok sú veličiny nezávisle premenné, pri separácii KV z KVK sme ich v našich experimentoch neregulovali. KV sme po separácii z KVK stanovovali rýchlou fotometrickou metódou [6], ktorú sme porovnali s kapilárnou izotachoforézou po predchádzajúcom čistení na ionexe [1].

Ing. Eva Kolesárová, PhMr. Elena Bubelíniová, Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

Materiál a metódy

Na analýzu sme použili KVK z Vinárskych závodov Pezinok, sušiny 16,9 % pri sledovaní vplyvu času záhrevu na stanovenie KV, 13,9 % pri sledovaní vplyvu riedenia na separáciu KV a 10,05 % pri porovnaní metód, ktoré sme skladovali v mraziacom boxe pri -20°C .

Separácia KV z KVK. Príslušné množstvo KVK sme zriedili 50 ml destilovanej vody a varili 15 minút. Potom sme kaly centrifugovali 10 minút pri 3000 ot/min. supernatant sme vliali do 100 ml odmernej banky a sediment po premytí vodou znovu centrifugovali. Získaný supernatant sme spojili s predošlým. Takto upravené roztoky sme použili na stanovenie KV.

Fotometrické stanovenie KV. Použili sme modifikovanú Rebeleinovu metódu, ktorá sa uvádza ako rýchla fotometrická metóda [6]. Zakladá sa na odfarbení vzorky aktívnym uhlím (adsorpciu KV na aktívnom uhlí sme nesledovali), tvorbe farebného komplexu s metavanadičnom amónnym. Na meranie sme použili Spekol 11 (Carl Zeiss, Jena) a 10 mm kyvetu.

Stanovenie KV kapilárnou izotachoforézou. Po separácii KV z KVK horúcou vodou sme KV izolovali na silne bázičkom meniči aniónov Dowex 1x2 v acetátovom cykle. Iónový vymieňač a izoláciu KV sme pripravili podľa [1]. Izolácia sa zakladá na vytesňovaní octanových funkčných skupín kyselinou vínnoú a jej elúciou síranom sodným.

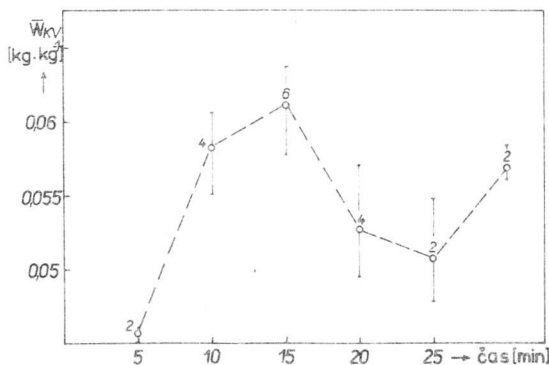
Na stanovenie KV sme použili kapilárnu izotachoforézu, ktorá sa pre svoju rýchlosť a jednoduchú prípravu vzorky osvedčila pri analýze organických kyselín [2].

Pracovali sme na izotachoforetickom analyzátore ZKI 001 (Ústav rádioekológie a využitia jadrovej techniky, Spišská Nová Ves). Na analýzu kyseliny vínnej sme použili elektrolytový systém: vodiaci elektrolyt – $1 \cdot 10^2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl + β -alanín, 0,1 % HEC, pH 3,2; zakončujúci elektrolyt – $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ CH_3COOH + Tris, pH 4,05. Hnací prúd v predseparačnej kapiláre bol 200 μA , hnací prúd v analytickej kapiláre 45 μA . Vzorky sme po zriedení redestilovanou vodou a po filtrácii dávkovali do izotachoforetického analyzátora dávkovacím kohútom v množstve 30 μl . Regresné rovnice a koeficient korelácie sme vypočítali podľa [7].

Výsledky a diskusia

V prvej sérii experimentov sme sa zamerali na určenie podmienok separácie KV z KVK. KV sme separovali z KVK horúcou vodou jednorazovou extrakciou. Pri viacstupňovej extrakcii sa rozdiel vo výsledkoch v porovnaní s

jednostupňovou extrakciou nepotvrdil. Keďže rozpustnosť hydrogenvínanu draselného, prítomného z KVK, je pri 100 °C 6,75 g.dm⁻³, nebolo potrebné upravovať pH roztokov na zvýšenie rozpustnosti solí KV. Vplyv času varu na separáciu KV z KVK je zrejmý z obrázku 1. Sledovali sme množstvo stanovenej KV v závislosti od času zohrevu, meniaceho sa v rozpätí 5–30 minút, pričom návažok KVK pri jednotlivých experimentoch bol približne 1,5 g. Z grafického vyjadrenia vyplýva, že maximálne množstvo KV sa odseparuje po 15-minútovom varení.



Obr. 1. Vplyv času zohrevu na hmotnostný zlomok kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch \bar{W}_{KV} pri jej fotometrickom stanovení. 2, 4, 6 – čísla udávajúce počet meraní.

Fig. 1. Effect of the heating period on the mass fraction for tartaric acid contained in yeast wine sludges \bar{W}_{KV} when rapid photometric method was used. 2, 4, 6 – Account of measurements. Time.

Ďalej sme sledovali vplyv množstva KV z KVK na jej stanovenie. Postupovali sme metódou štandardného prídavku hydrogenvínanu draselného, ktorý sme vyjadrili ako hmotnosť KV. Jednotlivé merania sme robili pri rôznych návažkách KVK. Závislosť celkovej stanovenej KV od množstva pridaného hydrogenvínanu draselného je priamková. Výsledky regresnej analýzy pri jednotlivých návažkách uvádza tabuľka 1. Z uvedeného je zrejmé, že so zvyšujúcim sa štandardným prídavkom hydrogenvínanu draselného klesá výťažnosť KV pri jej stanovení z KVK. So stanovovaným množstvom KV sa zväčšuje sústavná proporcionálna chyba. Hodnoty smerníc uvedených priamok klesajú v závislosti od veľkosti návažky KVK. Nižšiu výťažnosť KV ovplyvňuje aj zvyšujúci sa návažok KVK. To je zrejmé aj z obrázku 2, kde sme sledovali závislosť hmotnostného zlomku stanovenej KV (\bar{W}_{KV}) od hmotnostného zlomku KVK vo vode (\bar{W}_{KVK}). Rovnica danej závislosti má tvar:

$$\bar{W}_{KV} = 0,0404 - 0,01871n \bar{W}_{KVK}, \quad r = 0,9888.$$

Tabuľka 1. Regresná analýza závislosti celkovej stanovenej kyseliny vínnej m_1 [g] od množstva pridaného hydrogénnívanu draselného m_2 [g], vyjadreného ako g kyseliny vínnej, pri rôznych ná-
važkoch kvasničných vínnych kalov

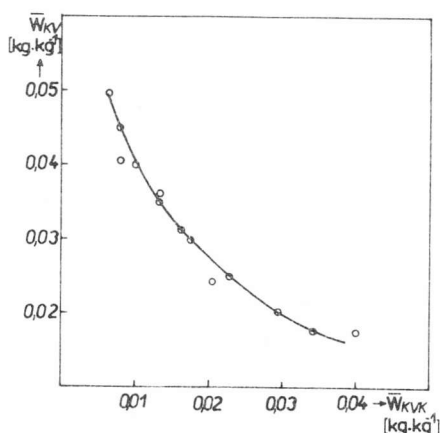
Table 1. Dependence of total determined quantity of tartaric acid m_1 [g] on the quantity of ad-
ded potassium hydrogen tartrate m_2 [g] which is expressed as g of tartaric acid, when weighted
amounts of yeast wine sludges are distinct

Diferenčne presný návažok kvasničných vínnych kalov ¹ [g]	Rovnica regresnej priamky ² $m_1 = a + bm_{23}$	Koef. korelácie ³	Výťažnosť KV pri stand. prídavku 0,6 g hydrogénnívanu dra- selného ⁴ [%]
1,0000	$m_1 = 0,0157 + 0,9761m_2$	0,9924	93,76
2,0000	$m_1 = 0,0390 + 0,9564m_2$	0,9994	92,45
3,0000	$m_1 = 0,0412 + 0,9244m_2$	0,9456	90,93
4,0000	$m_1 = 0,0923 + 0,8921m_2$	0,9789	89,97

Urobilo sa 5 meraní pri jednotlivých návažkách kvasničných kalov. Each weight of sample of yeast wine sludge was determined 5 times.

¹Exact difference weight of sample of yeast wine sludges; ²Equation of regression curve; ³Correlation coefficient; ⁴Yield of tartaric acid under standard deviation of potassium hydrogen tartrate 0.5 g.

To znamená, že pre konkrétnu sledovanú surovinu so stúpajúcim riedením množstvo stanovovanej KV prudko klesá. Maximálne množstvo KV sa odseparuje pri veľmi nízkych hodnotách \bar{W}_{KVK} . Súčasne sa však so znižujúcou hodnotou \bar{W}_{KVK} znižuje presnosť stanovenia, čo spôsobuje manipulácia s malým množstvom vzorky. Voľba ideálneho \bar{W}_{KVK} sa pohybuje v rozpätí 0,1–0,15 kg.kg⁻¹, pričom dolnú hranicu uvedeného rozpätia určuje metóda



Obr. 2. Závislosť hmotnostného zlomku kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch \bar{W}_{KV} od hmotnostného zlomku kvasničných vínnych kalov vo vode \bar{W}_{KVK} .

Fig. 2. Dependence of mass fraction for tartaric acid contained in yeast wine sludges \bar{W}_{KV} on mass fraction for yeast sludges contained in water \bar{W}_{KVK} .

stanovenia. Exaktnejšie vymedzenie tohto rozpätia nie je možné, keďže zloženie suroviny v jednotlivých ročníkoch i počas kampane značne kolíše.

Tabuľka 1 a obrázok 1 naznačujú, že separácia KV z KVK nie je nič iné ako desorpcia KV. Objasnenie mechanizmu desorpcie je pomerne komplikované, pretože KV môže byť absorbovaná na bunkových stenách kvasiniek, bentonite a zvyškoch hrozna, ktoré sú v KVK prítomné. Obrázok 2 naznačuje, že ide o fyzikálnu adsorpciu, ktorá má obdobný priebeh ako Langmuirova adsorpčná izoterma. Pri separácii je dôležité dodržať čas zahrevu, pretože vplyvom teploty kvasničné bunky autolyzujú, čím sa mení chemické zloženie a štruktúra KVK z hľadiska adsorpčných vlastností a podmienky desorpcie sa komplikujú (obr. 1).

Tabuľka 2. Porovnanie rýchlej fotometrickej metódy a metódy kapilárnej izotachofórezey pri stanovení kyseliny vínnej v kvasničných vínnych kaloch

Table 2. Determination of tartaric acid in yeast wine sludges using the rapid photometric method compared with the capillary isotachopheresis

Metóda ¹	\bar{W}_{KV} [kg · kg ⁻¹]	Interval spoľahlivosti pre 99 % hladinu pravdepodobnosti ²	Smerodajná odchýlka ³
rýchla fotometrická metóda ⁴	0,0109	± 0,0010	0,0011
kapilárna izotachofóreza ⁵	0,0107	± 0,0015	0,0005

\bar{W}_{KV} – hmotnostný zlomok KV v KVK, predstavujúci aritmetický priemer KV z 8 paralelných

\bar{W}_{KV} – mass fraction for tartaric acid contained in yeast wine sludges. This ratio represents arithmetic mean from 8 parallel measurements.

¹Method; ²Confidence interval for the 99% reliability level; ³Standard deviation; ⁴Rapid photometric method; ⁵Capillary isotachopheresis.

V ďalšej sérii experimentov sme odskúšali uvedený izolačný postup (pri navažku 1,5 g KVK) na stanovenie KV v KVK rýchlou fotometrickou metódou, ktorú sme porovnávali s metódou kapilárnej izotachofórezey. Z výsledkov (tab. 2) vyplýva, že rýchlu fotometrickú metódu, ktorá sa v súčasnosti používa vo vinárskej praxi pri stanovení KV vo vínach a muštach, možno aplikovať uvedeným spôsobom aj na stanovenie KV z KVK.

Metóda za daných podmienok analýzy dáva reprodukovateľné výsledky, ktoré sa dajú porovnať s výsledkami stanovenia KV metódou kapilárnej izotachofórezey. Všetky stanovenia sú však zaťažené sústavnou chybou pri separácii KV zo vzorky, ktorú možno korigovať vhodným riedením.

Literatúra

- [1] Recueil des méthode internationales d'analyse des vines. Paris, Office International de la vigne et du vin 1978, s. 164.
- [2] FARKAŠ, J. – KOVAL, M. – POLONSKÝ, J., Bull. PV, 21, 1982, č. 4, s. 25.
- [3] PFEIFFER, P. – RADLER, F., Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 81, 1985, s. 24.
- [4] MONK, P.R. – ILAND, P.G., Food Tech. Austr., 36, 1984, s. 18.
- [5] GRUŠEVSKIJ, E.N. – JOŽICA, V.M. – PARASKA, P.I., Sadov. vinograd. i vinodelja Moldavii, 2, 1983, s. 27.
- [6] VOGT, E.: Weinchemie und Weinanalyse. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer 1970, s. 318.
- [7] GROFÍK, R. a kol.: Štatistika. Bratislava, Príroda 1987.

Определение винной кислоты в бродильных винных осадках скорым фотометрическим методом и методом изотахофореза

Резюме

Работа исследовала влияние некоторых параметров, оказывающих влияние на сепарацию винной кислоты из бродильных винных осадков при её определении скорым фотометрическим методом (модифицированный метод Ребелеина). Обнаружилось что на этот процесс оказывает влияние время нагрева пробы, количество винной кислоты в бродильных винных осадках и разбавление бродильных винных осадков. Внеслось предложение об оптимальных условиях сепарации. Фотометрической метод был сравнен с методом капиллярного изотахофореза после предшествующей очистки на ионите. Результаты показывают, что фотометрический метод можно тоже применить при определении винной кислоты в бродильных винных осадках в проктических условиях.

Determination of tartaric acid in yeast wine sludges using rapid photometric method and isotachophoresis

Summary

Effects of separation of tartaric acid from yeast wine sludges were investigated using the rapid photometric method by the determination of tartaric acid. It was determined, that the described process is influenced by the time of sample heating and quantity of tartaric acid in yeast wine sludges and the dilution of yeast wine sludges. Optimal conditions of separation were proposed. Photometric method was compared with the capillary isotachophoresis. Samples were first purified with ion exchanger. The results of comparison show the application possibility of photometric method also for the determination of tartaric acid in yeast wine sludges in practice.