

УДК 543.544.6:543.8.

ИОНОЭКСКЛЮЗИОННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКСИКОРИЧНЫХ И ОКСИБЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ В ВИНОГРАДНЫХ ВИНАХ

И.В. Селиверстова, А.А. Иванов, В.В. Северов

(кафедра аналитической химии; e-mail: seliverstova_iri@mail.ru)

Исследовано поведение оксикоричных и оксисбензойных кислот на сорбенте стиролдивинилбензольного типа Aminex Q-15S. Подобраны условия их наиболее селективного и эффективного разделения в режиме одноколоночной ионоэкслюзионной хроматографии с УФ-детектированием. Достигнуто разделение 13 ароматических кислот, наиболее часто встречающихся в продуктах растительного происхождения. Определено содержание галловой и бензойной кислот в пяти образцах сухих французских вин.

Применение современных хроматографических методов в анализе пищевых продуктов является важной задачей при определении их химического состава и оценке качества, так как среди современных проблем охраны здоровья населения России проблема питания человека, в частности, предотвращение поступления в организм некачественных пищевых продуктов, занимает особое место. Качество и безопасность продуктов питания необходимо отнести к одному из основных факторов, определяющих здоровье нации и сохранение ее генофонда [1].

Ионоэкслюзионная хроматография (ИЭХ) – эффективный экспрессный метод определения слабодиссоциированных соединений на сильно-кислотных катионообменниках, не требующий сложной пробоподготовки и позволяющий определять органические кислоты и анионы в присутствии больших избытков неорганических соединений [2, 3]. Применение ИЭХ дает возможность уменьшить время анализа, улучшить селективность разделения кислот и понизить пределы обнаружения.

Виноградные вина содержат в своем составе много компонентов, в том числе и органические кислоты [4, 5]. Знание состава и концентрации присутствующих в винах кислот позволяет судить о качестве и правильности технологии изготовления продукта. Фенольные соединения кислотного характера C_6-C_1 - и C_6-C_3 -рядов, а также продукты их превращений в результате окислительно-восстановительных процессов не только влияют на вкус и цвет напитков, но и обладают антиокислительной активностью.

Фенольные соединения C_6-C_1 -ряда состоят из ароматического ядра и одноуглеродной боковой цепи. Эта группа фенольных соединений представлена в растениях оксисбензойными кислотами (рис. 1). Фенольные соединения C_6-C_3 -ряда состоят из ароматического ядра и трехуглеродной боковой цепи. К ним относятся оксикоричные кислоты (рис. 2).

Поскольку определение ароматических кислот в напитках брожения является актуальной задачей, цель настоящей работы состояла в подборе оптимальных условий определения органических кислот

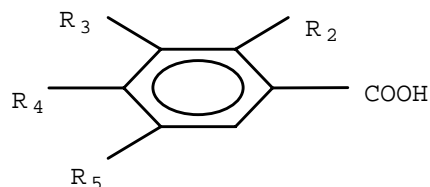


Рис. 1. Оксисбензойные кислоты: *n*-оксисбензойная ($R_4 = OH$), протокатеховая ($R_3 = R_4 = OH$), ванилиновая ($R_3 = OCH_3$; $R_4 = OH$), галловая ($R_3 = R_4 = R_5 = OH$), сиреневая ($R_3 = R_5 = OCH_3$; $R_4 = OH$), салициловая ($R_2 = OH$), гентизиновая ($R_2 = R_5 = OH$)

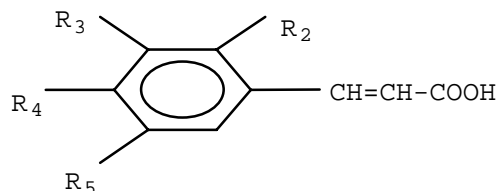


Рис. 2. Оксикоричные кислоты: *n*-оксикоричная ($R_4 = H$), кофейная ($R_3 = R_4 = OH$), феруловая ($R_3 = OCH_3$; $R_4 = OH$), синаповая ($R_3 = R_5 = OCH_3$; $R_4 = OH$)

методом одноколоночной ИЭХ на сульфокатионно-обменнике высокой емкости с последующим анализом сложных объектов – виноградных вин.

Экспериментальная часть

Работу проводили на хроматографе фирмы “Kontron instruments” (Италия) с использованием насоса Kontron 422 и детектора “Kontron 430A”. Узлом ввода пробы служил шестиходовой кран фирмы “VICI” (США). Для разделения использовали колонку размером 8×150 мм, заполненную катионообменником высокой емкости и низкой степени сшивки (“Aminex Q-15S”). Данный сорбент имеет следующие характеристики: функциональная группа -SO₃H, сшивка 4%, размер частиц 22±3 мкм, активная емкость 1,7 мэкв/см³, предельное давление 500 атм. Скорость подачи элюента варьировали от 0,6–1,2 см³/мин. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл. Детектирование кислот проводили спектрофотометрически в интервале длин волн $\lambda = 190\text{--}240$ нм.

Качественное определение осуществляли по временам удерживания индивидуальных соединений каждой из кислот, при этом концентрации модельного раствора и анализируемой пробы были примерно одинаковыми. В реальных объектах времена удерживания предварительно идентифицированных соединений подтверждали методом добавок. При добавлении к определяемой кислоте модельного аналога высота пика увеличивается в том случае, если кислоты идентичны. В противном случае на хроматограмме наблюдается дополнительный пик. Даже если кислоты имеют очень близкие времена удерживания, при их смешивании на хроматограмме заметны два пика. В реальных образцах большинство пиков после подбора оптимальных условий разделения имеет узкую симметричную форму. Определение концентрации кислот с таким хроматографическим профилем проводили сравнением высот пиков с высотами пиков модельной смеси. Растворы исследуемых кислот и элюентов готовили растворением соответствующих препаратов квалификации “ч.д.а.” в деионизованной воде.

Результаты и обсуждение

Для определения оксикоричных и оксибензойных кислот с помощью УФ-детектора необходим правильный выбор длины волны детектирования

(λ). Было установлено, что оптимальной является длина волны 210 нм, при которой можно определять кислоты в самых низких концентрациях.

В качестве элюента использовали раствор серной кислоты, так как в кислой среде все анализируемые карбоновые кислоты находятся в молекулярной форме. Кроме этого, серная кислота – дешевый и легкодоступный реагент, т.е. ее использование экономически целесообразно. При выборе элюента концентрацию серной кислоты изменяли от 0 до 40 мМ. Было найдено, что увеличение концентрации от 0 до 20 мМ приводит к значительному улучшению селективности разделения. Дальнейшее увеличение концентрации оказывает меньшее влияние на селективность. Таким образом, для определения кислот целесообразно использовать в качестве элюента 20 мМ раствор серной кислоты.

Для изучения влияния скорости подачи элюента на селективность и эффективность разделения скорость меняли в пределах от 0,2 до 1,2 см³/мин. При уменьшении скорости подачи от 1,2 до 0,4 см³/мин форма пиков заметно улучшилась. При наличии в пробе большого количества сильноудерживаемых ароматических кислот скорость потока целесообразно увеличивать до 0,8 см³/мин, что позволяет сократить время удерживания в два раза.

Таким образом, были установлены условия, позволяющие наиболее эффективно проводить определение оксикоричных и оксибензойных кислот. Дальнейшие определения проводили при скорости потока 0,8 см³/мин, $\lambda = 210$ нм, элюент – серная кислота (20 мМ). В ходе эксперимента удалось добиться разделения 13 фенолкарбоновых кислот* (галловая, миндальная, фенилуксусная, фенилпропионовая, гидрокоричная, бензойная, *n*-оксибензойная, салициловая, кофейная, β -метилкоричная, *o*-метоксибензойная, коричная, *o*-кумаровая). На рис. 3 представлены порядок выхода и величина отклика некоторых кислот (концентрация 180–200 мг/дм³), наиболее часто встречающихся в виноградных винах.

В описанных выше условиях был проведен анализ реальных объектов – “тихих” виноградных вин. Массовые концентрации кислот представлены в таблице. Содержание алифатических кислот в исследуемых винах определяли методом ионоэкслюзионной хроматографии на жидкостном ионном хроматографе “Цвет-3006” с кондуктометри-

* Кислоты перечислены в порядке выхода.

Основные физико-химические показатели и содержание органических кислот в сухих французских виноградных винах
($P = 0,95, n = 3$)

Название вина	Объемная доля этилового спирта, % об.	Массовая концентрация сахаров, г/дм ³	Массовая концентрация титруемых кислот, г/дм ³	Массовая концентрация кислот							галловая, мг/дм ³	бензойная, мг/дм ³
				винная, г/дм ³	яблочная, г/дм ³	молочная, г/дм ³	янтарная, г/дм ³	уксусная, г/дм ³	галловая, мг/дм ³	бензойная, мг/дм ³		
Chateau Sgizeau Blanc	12,5	1,4	5,6	1,65±0,02	1,60±0,02	0,59±0,04	0,34±0,05	0,71±0,05	21±5	61±		
Petit Chablis	12,5	2,8	6,6	1,83±0,02	0,34±0,02	2,91±0,04	0,45±0,05	0,62±0,05	18±5	121		
Fiton-Domaine des Ardoises	12,9	2,9	5,3	2,12±0,02	0,52±0,02	2,28±0,04	0,60±0,05	1,01±0,05	107±5	15±		
Chateay Coucheroz Rouge	12,4	3,0	4,9	1,80±0,02	0,51±0,02	2,90±0,04	0,53±0,05	1,04±0,05	99±5	15±		
Chateau de Bitot	12,6	2,9	4,2	1,51±0,02	0,50±0,02	2,83±0,04	0,51±0,05	1,10±0,05	196±5	26±		

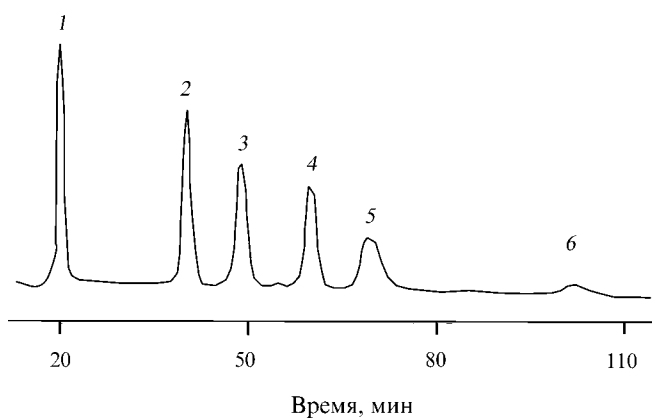


Рис. 3. Хроматографическое разделение ароматических кислот на ионоэкслюзионной колонке (размер колонки 8×150 мм, сорбент *Atinex Q-15S*, элюент 20 мМ серная кислота, скорость потока 0,8 см³/мин, $\lambda = 210$ нм. Кислоты: 1 – галловая; 2 – гидрокоричная; 3 – бензойная; 4 – *n*-оксибензойная; 5 – кофейная; 6 – *o*-кумаровая

ческим детектированием [5]. Основные физико-химические параметры вин определяли методами,

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федеральный закон № 28ФЗ от 2 января 2000 г. "О качестве и безопасности пищевых продуктов".
2. Иванов А.А., Медведь А.Л. // ЖАХ. 1993. **48**. С. 1539.
3. Chen Z.L., Adams M.A. // J. Liq. Chromatogr. 1998. **21**. P. 2435.
4. Кретович В.Л. Биохимия растений. М., 1986.
5. Родопуло А.К. Основы биохимии виноделия. М., 1983.
6. Селиверстова И.В., Иванов А.А., Иванова Л.А. // Виноделие и виноградарство. 2001. **4**. С. 9.
7. Вина виноградные и виноматериалы виноградные обработанные. Общие технические условия. ГОСТ 7208-93. Минск, 1998. Схема. Структурные формулы оксибензойных и оксикоричных кислот.

Поступила в редакцию 02.09.03

ION-EXCLUSION DETERMINATION OF HYDROXYCINNAMIC AND HYDROXYBENZOIC ACIDS IN WINES

I.V. Seliverstova, A.A. Ivanov, V.V. Severov

(Division of Analytical Chemistry)

The regularities in the retention of aromatic carboxylic acids conditions of single-column ion-exclusion chromatography with spectrophotometric detection. The optimum conditions for determining aromatic acids with spectrophotometric detection are chose. The influence of eluants pH, detections wavelength on their determination was studied. Analytical parameters of using method were determined. It is established that solutions of 20 mM sulfuric acids are the most suitable eluants for single-column ion-exclusion determination. The developed technique was used for the qualitative and quantitative analysis of the real objects. Wine samples produced by different technology were qualuated on the content of acids was determined.

предусмотренными ГОСТ для натуральных виноградных вин [7].

Таким образом, в результате проведенной работы исследовано поведение некоторых оксикоричных и оксибензойных кислот на ионоэкслюзионной колонке. Подобраны и применены для анализа виноградных вин условия наибольшего селективного и эффективного разделения ароматических кислот в режиме одноколоночной ИЭХ с УФ-детектированием.

Полученные данные представляют теоретический и практический интерес, доказывают преимущества применения ИЭХ для определения без предварительной пробоподготовки органических кислот в винах. Кроме того, сама по себе задача определения ароматических кислот является практически важной для медицинских, фармакологических, биологических исследований и ряда отраслей промышленности.