

УДК 663.252.4

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГАЗОВОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ  
И КАПИЛЛЯРНОГО  
ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ АНАЛИЗА  
ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ**

Кузилов Малхаз Владимирович  
канд. техн. наук

*Закрытое акционерное общество КПП  
«Теучежский», Адыгейск,  
Республика Адыгея*

Ложникова Марина Сергеевна

*Центральное экспертно-  
криминалистическое таможенное  
управление, Филиал ЭКС,  
Ростов-на-Дону, Россия*

Захарова Марина Витальевна  
канд. с.-х. наук

Якуба Юрий Федорович  
канд. техн. наук, доцент

*Государственное научное учреждение  
Северо-Кавказский зональный научно-  
исследовательский институт  
садоводства и виноградарства  
Россельхозакадемии, Краснодар, Россия*

Рассмотрены возможности и новые методические подходы к анализу винодельческой продукции с помощью капиллярного электрофореза и газовой хроматографии. Обсуждены действующие ГОСТы, предусматривающие контроль в винах органических кислот, красителей и консервантов. Предложены методические решения по определению глюкозы, фруктозы, сахарозы и общего фосфора в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза.

*Ключевые слова:* ВИНО, ДИСТИЛЛЯТ, АНАЛИЗ, ЭЛЕКТРОФОРЕЗ, ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

UDC 663.252.4

**USE OF GAS CHROMATOGRAPHY  
AND CAPILLARY  
ELECTROPHORESIS  
FOR ANALYSIS OF WINE  
PRODUCTION**

Kuzilov Malhaz  
Cand. Tech. Sci.

*CJSC KPP “Teuchezhskiy”, Adygheysk,  
Republic of Adygheya*

Lozhnikova Marina

*Central Expert-Criminalistic Custom Office,  
Branch Office ECS, Rostov-na-Donu, Russia*

Zaharova Marina  
Cand. Agr. Sci.

Yakuba Yuriy  
Cand. Tech. Sci., Docent

*State Scientific Organization North  
Caucasian Regional Research Institute  
of Horticulture and Viticulture  
of the Russian Academy of Agricultural  
Sciences, Krasnodar, Russia*

Possibilities and new methodical approaches of the analysis of wine production by means of capillary electrophoresis and gas chromatography are considered. The current Standards, providing control in wines of organic acids, dyes and preservatives are discussed. Methodical decisions for definition of glucose, fructose, sucrose and general phosphorus in wine production are offered by method of capillary electrophoresis.

*Keywords:* WINE, DISTILLATE, ANALYSIS, ELECTROPHORESIS, GAS CHROMATOGRAPHY

**Введение.** Предпосылки появления электрофореза связаны с открытием электроосмоса в начале 19 века и законом Кольрауша о независимом движении ионов (1897 г.). Интенсивное использование метода капиллярного электрофореза в аналитической практике началось с достижения Jorgenson J.W. (1983), предложившего использовать наряду с электрофорезом электроосмотического потока, обеспечивающего движение компонентов пробы в одну сторону и позволившего реализовать электрофорез в приборе с одним детектором [1].

Применение кварцевых капилляров, положительно зарекомендовавших себя, начиная с 1973 г., в многочисленных методиках с использованием капиллярной газовой хроматографии, в методе электрофореза, в начале 90-х гг. XX века позволило создать аналитическое оборудование, способное конкурировать с признанными методами газовой и жидкостной хроматографии. В настоящее время капиллярный электрофорез наиболее востребован в фармацевтической промышленности и медицине; в РФ активно развивается направление контроля качества пищевой продукции.

В европейских странах для исследования происхождения вина применяют самые передовые технологии: с 50-х гг. XX века ведется учет изотопов углерода в атмосферном воздухе Европы, составлены каталоги, позволяющие оценить год урожая винограда. Для исследований изотопного состава атмосферы используют ЯМР-спектрометры, комбинации спектральных методов с хроматографическими и другие приборные решения.

В исследовательской работе научного центра виноделия ГНУ СКЗНИИСиВ системы капиллярного электрофореза были успешно применены для определения катионов щелочных и щелочноземельных металлов в винодельческой продукции и в некоторых случаях – сорбиновой кислоты, а газовая хроматография – для контроля летучих компонентов вина. Затем работа продолжилась в направлении совершенствования контроля и других показателей качества натуральных виноградных вин.

В отношении винодельческой продукции достаточно трудно рекомендовать какой-либо один надежный способ установления факта низкого качества или фальсификации. Однако, по разным оценкам, в настоящее время до 50% проверяемой алкогольной продукции бракуется из-за ее несоответствия нормативным требованиям, в том числе по органолептической оценке. Имеются многочисленные случаи продажи и потребления фальсифицированной и низкокачественной винодельческой продукции, нанешие вред здоровью потребителя.

Исходя из чисто экономических соображений, предприятия для выпуска известных марок винодельческой продукции используют более дешевое сырье (в том числе некондиционное), низкокачественные пищевые добавки и упрощенные технологии.

Таким образом, несовершенство нормативной базы оставляет большие возможности для создания фальсифицированной продукции или выработанной с нарушениями технологических инструкций. Испытания, регламентированные действующими ГОСТ Р на винодельческую продукцию, недостаточно приспособлены для установления качества и степени фальсификации. Как правило, продукция соответствует заявленным параметрам, но лишена типичной органолептической характеристики.

Такие вина и виноградные крепкие напитки, обладая плохой вкусовой характеристикой, могут стать и причиной отравлений из-за наличия нерегламентированных стандартами химических соединений, обладающих собственной токсичностью, или же компонентами, усиливающими токсичность этилового спирта [2].

В странах Евросоюза действует нормативно-техническая и информационно-документальная база, направленная на борьбу с некачественной и фальсифицированной продукцией. Для установления соответствия реализуемой винопродукции требуемому качеству используется комплекс или совокупность критериев, включающих контроль традиционных показате-

лей и специальных (сахарозы, глюкозы, фруктозы, катионов металлов, анионов, глицерина, зольности, щелочности золы).

Ввиду этого, в РФ происходит планомерное совершенствование нормативной базы и развитие аналитического контроля винопродукции, предназначенное ограничить фальсификацию и нарушения технологии. В качестве востребованных приемов анализа следует отметить возрастающее значение нормативных документов, в которых для контроля качественных показателей винодельческой продукции и вспомогательных материалов используется метод капиллярного электрофореза [1, 3]. Следует отметить и расширение перечня традиционно контролируемых параметров.

**Обсуждение результатов.** Наряду с контролем лимонной кислоты, содержание которой регламентируется – не более 1 г/дм<sup>3</sup>, производственные и контролирующие организации заинтересованы в установлении массовых концентраций и остальных ведущих органических кислот винодельческой продукции – винной, яблочной, янтарной, молочной, свидетельствующих о виноградном происхождении вина [4].

С учетом изложенного и имеющейся информации [5, 6] для измерения массовой концентрации винной, яблочной, янтарной, лимонной, молочной кислот в СКЗНИИСиВ разработан ГОСТ Р 52841-2007, регламентирующий применение метода капиллярного электрофореза, с датой введения 1.01.2009г [7]. Для реализации измерения предусматривается разбавление пробы вина в 20-50 раз дистиллированной водой и центрифугирование, время анализа не превышает 15 минут.

Методика анализа, согласно ГОСТ Р 52841-2007, отработана на серийных отечественных системах капиллярного электрофореза «Капель», оборудованных фотометрическим детектором.

Содержание винной кислоты характеризует виноградное происхождение вина, и ее концентрация в кондиционных винах и виноматериалах, а

также для виноматериалов, полученных без нарушений технологии, всегда должна быть преобладающей над остальными органическими кислотами.

Яблочная кислота, как и винная, – одна из основных органических кислот виноградных вин, но ее массовая концентрация должна быть менее винной [4]. Если в винах или виноматериалах будет найдена концентрация яблочной кислоты, превышающая содержание винной, то это свидетельствует о том, что в технологии использован невызревший виноград, либо внесены плодовые соки (яблочные и т.д.). Очень низкое содержание (менее  $0,2 \text{ г/дм}^3$ ) яблочной кислоты характерно виноградным винам, для которых проводили яблочно-молочное брожение, однако в этом случае должно быть обнаружено повышенное содержание молочной кислоты (более  $1,5 \text{ г/дм}^3$ ). Нарушение этого условия может быть расценено как один из вариантов фальсификации или искажения качества [4].

Содержание янтарной кислоты менее  $0,1 \text{ г/дм}^3$  может свидетельствовать о некотором снижении антиоксидантных свойств вина, а более  $0,6-0,8 \text{ г/дм}^3$  – о применении специальных рас дрожжей или возможном искусственном внесении. Многочисленные исследования как зарубежных, так и отечественных ученых свидетельствуют о том, что наиболее характерное содержание лимонной кислоты в различных винах находится в пределах  $0,2-0,8 \text{ г/дм}^3$ . Содержание молочной кислоты на уровне  $2,0-3,5 \text{ г/дм}^3$  свидетельствует о проведении яблочно-молочного брожения. Аналогично в вакуум-сусле виноградного происхождения соотношение и содержание вышеперечисленных кислот должно соответствовать вину и быть в несколько раз выше.

Нерегламентированное использование красителей в технологии изготовления вина послужило причиной разработки и введения в действие с 1.01.2010 г ГОСТ Р 53154-2008 «Вина и виноматериалы. Определение синтетических красителей методом капиллярного электрофореза» [8]. Для корректировки или фальсификации цвета вина могут быть использованы

красные или желтые красители, в связи с этим ГОСТ Р 53154-2008 предусматривает определение тартразина, желтого «солнечный закат», кармуазина, амаранта, понсо 4R, красного 2G, красного очаровательного АС в диапазоне концентраций 2-200 мг/дм<sup>3</sup>.

Разделение компонентов рекомендовано проводить на приборе с фотометрическим детектором, оснащенным кварцевым капилляром эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром  $75 \times 10^{-6}$  м и при напряжении «-25 кВ». Для реализации измерения пробу вина разбавляют в 10-50 раз дистиллированной водой, центрифугируют, время анализа не превышает 12 минут. Для разделения компонентов применен ведущий электролит из 50 мМ/дм<sup>3</sup> лимонной кислоты, 50 мМ/дм<sup>3</sup> тетраметилэтилендиамина, 50 мМ/дм<sup>3</sup> трилона Б и ацетонитрила, смешанных в объемных соотношениях 4:3:1:1.

Группой компаний «Люмэкс» разработан ГОСТ Р 53193-2008 «Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза», дата введения 1.01.2010г [9]. Методика предусматривает разбавление анализируемой пробы дистиллированной водой в 2-5 раз, при этом диапазон измеряемых значений массовых концентраций составляет 10-1000 мг/дм<sup>3</sup>, время анализа – 15 мин. Доверительные границы допускаемой относительной погрешности для кофеина и сахарината натрия равны 12%, аскорбиновой, бензойной кислот, ацесульфама К – 20%, сорбиновой кислоты – 28%.

Метод капиллярного электрофореза успешно применен для прямого определения глюкозы, сахарозы и фруктозы в винах, фруктовых соках, экстрактах из различных твердых тканей плодовых культур и винограда, что отражено в стандарте организации ГНУ СКЗНИИСиВ СТО 00668034-025-2011 «Методы оценки массовой концентрации фруктозы, глюкозы и

сахарозы в биологических объектах и продуктах переработки плодов и винограда посредством высокоэффективного капиллярного электрофореза».

Оптимизированы следующие условия выполнения анализа. Система капиллярного электрофореза серии «Капель» оборудована ультрафиолетовым детектором (254 нм) со следующими характеристиками:

- кварцевый капилляр, эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром  $75 \times 10^{-6}$  м; ведущий электролит готовят следующим образом: в высушенный стеклянный сосуд с завинчивающейся крышкой помещают 20 мг сорбата калия, 40 мг 10%-ного водного раствора цетил-триметиламмоний-основания (ЦТА-ОН), 160 мг глицерина (ч.д.а.), добавляют 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 0,08 см<sup>3</sup> 1%-ного раствора гидроокиси калия;
- рекомендуемое напряжение – «-16» кВ, при этом ток должен составить  $45 \pm 2$  мкА, время анализа 15 минут.

Пробоподготовку осуществляют следующим образом: пробу сока, вина или другого объекта разбавляют в 2-50 раз (в зависимости от ожидаемого суммарного содержания сахаров), центрифугируют 3-5 минут при 6000 об<sup>-1</sup>, переносят в прибор и производят дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 5 секунд.

Ориентировочное время выхода: глюкозы – 12,5 мин, сахарозы – 13 мин, фруктозы – 12,2 мин. Диапазон измеряемых значений массовых концентраций сахаров составляет 0,1-5 г/дм<sup>3</sup>.

Пример определения сахаров градуировочной смеси показан на рис. 1, а пример анализа сахаров виноградного вина показан на рис. 2.

В описанных условиях проведен анализ градуировочных смесей, фруктовых соков, полусухих и полусладких красных и белых виноградных вин, экстрактов. Установлено, что для получения воспроизводимых результатов следует тщательно соблюдать условия промывки капилляра в ходе выполнения измерений.

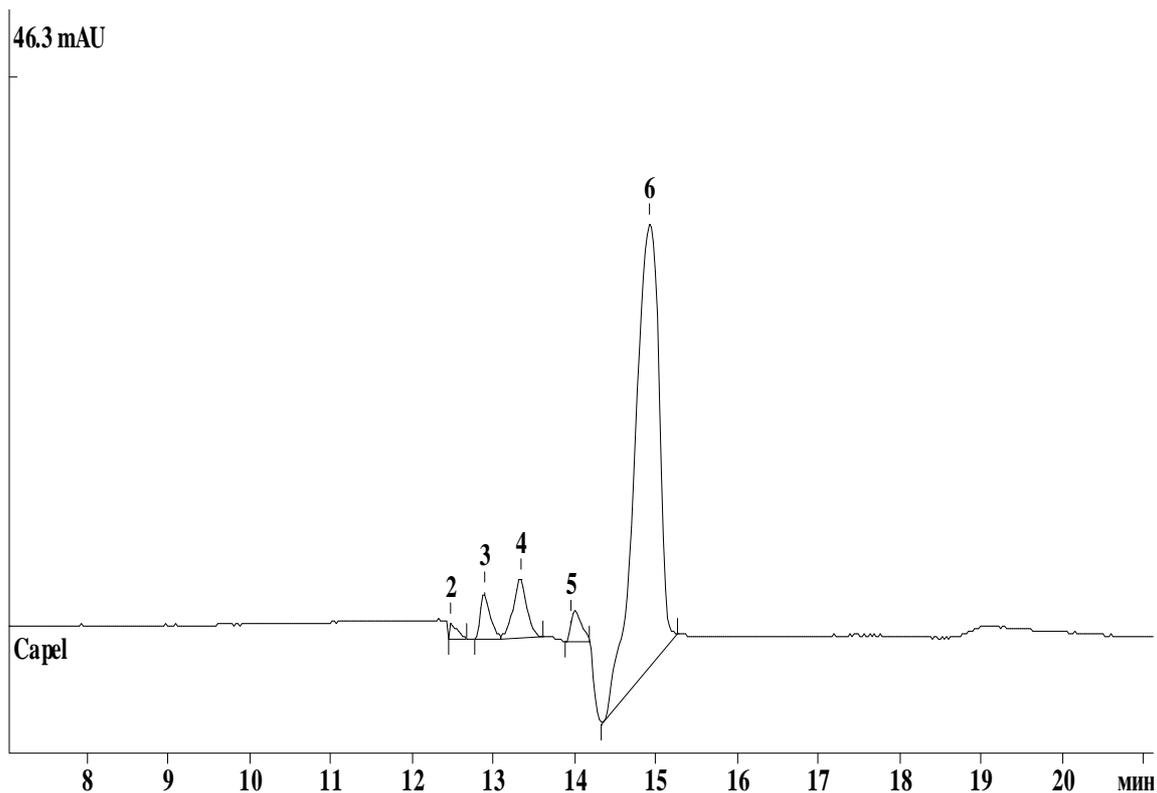


Рис. 1. Электрофореграмма градуировочной смеси сахаров:  
3 – фруктоза, 4 – глюкоза, 5 – сахароза, 6 – системный пик

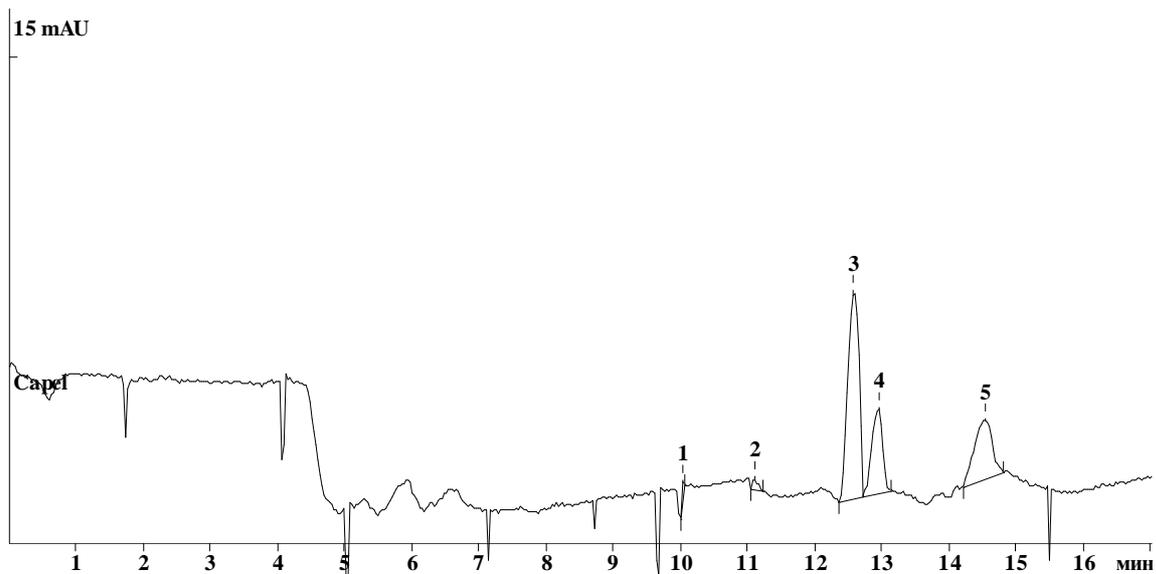


Рис. 2. Электрофореграмма полусладкого белого виноградного вина:  
3 – фруктоза, 4 – глюкоза, 5 – системный пик

Не менее важное значение имеют методики капиллярного электрофореза для исследований качественных показателей коньячных спиртов и коньяков [11]. Ввиду того, что во время выдержки коньячного спирта образуются альдегиды – ванилин, конифериловый, синаповый, сиреневый и ряд кислот ароматического ряда, – то судить о возрасте готового напитка, при условии соблюдения регламента технологии, можно по массовым концентрациям этих веществ.

Для прямого определения ароматических альдегидов ванилина, кониферилового, синапового, сиреневого в коньячных спиртах и коньяках оптимизированы следующие условия выполнения анализа.

Система капиллярного электрофореза серии «Капель», оборудованная ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм и следующими характеристиками:

- кварцевый капилляр, эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром  $75 \times 10^{-6}$  м; ведущий электролит на основе тетрабората натрия ( $2 \text{ мг/см}^3$ ) и имидазола ( $2 \text{ мг/см}^3$ ), смешанные в соотношении 1:1, причем тетраборат натрия использован для создания ионной силы электролита, а имидазол – вещества-корректора поглощающей способности электролита при определении альдегидов;
- рекомендуемое напряжение – «+8...+10» кВ, при этом ток должен составить  $6 \pm 1 \text{ мкА}$ , время анализа 20-25 минут.

Пробоподготовку осуществляли следующим образом: пробу коньячного спирта или коньяка разбавляли в 2-10 раз, центрифугировали 3-5 минут при  $6000 \text{ об}^{-1}$ , переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 10 секунд.

В случае проведения экстракционной пробоподготовки методика пригодна для определения ароматических альдегидов в выдержанных виноградных винах.

Ориентировочное время выхода альдегидов: ванилина – 13 мин, ко-ниферилового – 11,8 мин, сиреневого – 12,3 мин, синапового – 11,5 мин. Порог обнаружения альдегидов составил 0,05 мг/дм<sup>3</sup>, линейность обеспечивалась до 50 мг/дм<sup>3</sup> включительно. Идентификацию ароматических альдегидов в коньячных спиртах и коньяках проводили по времени удерживания и методом добавки.

В описанных условиях проведен анализ градуировочных смесей, коньячных спиртов и коньяков. Установлено, что не мешают определению колер, вещества танинной природы, производные галловой кислоты, катионы металлов и отрицательно заряженные ионы. В случае помех во время анализа сложных по составу объектов может быть использован более длинный капилляр, например эффективной длиной 0,6 м.

Для определения массовых концентраций ароматических альдегидов и фенолкарбоновых кислот в коньячных спиртах и коньяках предложена электрофоретическая методика [12], а для контроля возможного маркера возраста – галловой кислоты – методика [13] с диапазоном определения 1-100 мг/дм<sup>3</sup>.

Продуктивность плодовых культур, винограда и фактически качество винодельческой продукции формируется в прямой зависимости от наличия доступных форм фосфора в почве. На долю фосфора приходится около 1% сухого вещества растений и плодов. Содержание общего фосфора в виноградных винах может достигать 100-300 мг/дм<sup>3</sup>, а избыток фосфатов может служить причиной понижения качества вина.

Методы определения общего фосфора условно можно разделить на две группы – классические химические и инструментальные. Сущность всех методов определения общего фосфора заключается в разрушении органического (минерального) вещества до фосфат-ионов и выполнении количественного анализа. В сравнении с существующими приемами определения общего фосфора разработка оперативной и достоверной методики

посредством капиллярного электрофореза обеспечит высокую эффективность и технологичность анализа. Проведенные экспериментальные исследования позволили предложить следующие условия выполнения анализа.

Система капиллярного электрофореза «Капель», оборудованная ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм, источником питания отрицательного напряжения и следующими характеристиками:

- кварцевый капилляр, эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром  $75 \times 10^{-6}$  м;
- ведущий электролит, состоящий из бихромата калия и гексаметилендиамина концентрацией каждого 12 мМоль/дм<sup>3</sup>, затем смешанных в соотношении 1:1; рекомендуемое напряжение –10 кВ, при этом ток должен составить  $50 \pm 4$  мкА; время анализа 15 минут.

Проведение окислительной пробоподготовки позволяет достичь высокого качества и соответствующей точности определения общего фосфора в изучаемых образцах и устранить влияние других анионов на сам ход анализа.

Следует отметить возрастающее значение методов газовой хроматографии для изучения летучих компонентов винодельческой продукции, характеризующих ее качество и безопасность [14].

Для хроматографических измерений вина или дистиллятов может быть применена 50 м кварцевая капиллярная колонка HP FFAP с внутренним диаметром 0,32 мм, производства США на газовых хроматографах «Кристалл-2000М», HP 6890 или других аналогичного класса.

Условия газо-хроматографического анализа следующие:

- температура инжектора хроматографа – 180°C;
- температура подогрева детектора ДИП – 200°C ;
- входное давление на колонке 55-60 кПа;
- температура термостата колонок 70°C, изотерма 7 минут, затем программирование температуры со скоростью 3-5°C/мин

- до 140°C, выдержка 20 минут, затем программирование температуры со скоростью 10°C/мин до 180°C и выдержка до конца анализа не менее 30 мин;
- испаритель с делением потока, коэффициент деления потока 1:33;
  - поток газа-носителя через колонку 1,21 см<sup>3</sup>/ мин;
  - объем пробы – 1 мм<sup>3</sup>; для дистиллятов натуральных вин допускается дозирование 2 мм<sup>3</sup>;
  - газ-носитель – азот;
  - расход водорода – 20 см<sup>3</sup>/ минуту;
  - расход воздуха – 200 см<sup>3</sup>/ минуту;
  - время анализа – 60 минут.

Для корректного измерения в винодельческой продукции концентраций уксусной кислоты, 2,3-бутиленгликоля, этиллактата использование отгонов для анализа недопустимо. Однако, из-за значительного содержания в винодельческой продукции красящих веществ, сахаров, фенольных соединений и последующего их разложения в инжекторе, в конечном итоге приводящего к значительному ухудшению параметров капиллярной колонки, прямое измерение можно проводить только для белых сухих вин и коньячной продукции при разведении дистиллированной водой в 2 раза. В исключительных случаях может быть выполнен прямой анализ красных сухих вин, в том числе полусладких вин, при разведении дистиллированной водой в 10 раз. Разбавление учитывают при получении количественных результатов.

**Выводы.** Нормативное обеспечение качества винодельческой продукции в России находится в достаточно динамичном развитии, о чем свидетельствует появление и внедрение новых ГОСТ Р, в которых регламентированы газохроматографические, ферментативные и электрофоретические методы анализа, соответствующие уровню мировых исследований.

Аналитическая информация состава винодельческой продукции, полученная с помощью новых и разрабатываемых ГОСТ Р, имеет важное прикладное значение и позволяет решать вопросы, связанные с качеством винодельческой продукции. Дальнейшее развитие инструментальных методов анализа позволит снизить процент фальсифицированных вин на алкогольном рынке страны.

### Литература

1. Беленький, Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез / Б.Г. Беленький. – СПб.: Наука, 2009. – 320 с.
2. Агеева, Н.М. Идентификация и экспертиза виноградных вин и коньяков / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина. – Краснодар: АФ «Центральная», 2008. – 174 с.
3. Руководство по капиллярному электрофорезу. – М.: ЦНИИТЭИ Тракторсельмаш, 1996. – 231 с.
4. Шольц, Е.П. Технология переработки винограда / Е.П. Шольц, С.В. Пономарев. – М.: Агропромиздат, 1990. – 447 с.
5. Mallet S., Arellano M., Boulet J.C., Couderc F. Determination of tartaric acid in solid wine residues by capillary electrophoresis and indirect UV detection. *J. Chromatogr. A*. 1999. V853. P.181-184.
6. Kandl T., Kupina S. An improved capillary electrophoresis procedure for the determination of organic acids in grape juice and wine. *Amer. J. Enol. And Vitic.* 1999. V50. №2. P.155-161.
7. ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза.– М., 2008.– 7 с.
8. ГОСТ Р 53154-2008 Вина и виноматериалы. Определение синтетических красителей методом капиллярного электрофореза.– М., 2009.– 11 с.
9. ГОСТ Р 53193-2008 Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза.– М., 2010. –11 с.
10. Маркосов, В.А. Применение капиллярного электрофореза для анализа винодельческой продукции/ В.А. Маркосов, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева [и др.]// Магарач. Виноградарство и виноделие.– 2007.– №2.– С. 23-25.
11. Якуба, Ю.Ф. Определение ароматических альдегидов в коньячных спиртах и коньяках / Ю.Ф. Якуба, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева // Виноделие и виноградарство.– 2005.– №3.– С. 15.
12. Патент 2350939 РФ Способ определения ароматических альдегидов и фенолкарбоновых кислот в коньяках, коньячных спиртах и выдержанных винах методом капиллярного электрофореза / О.В. Морозова, Н.В. Комарова; ООО «ВИНТЕЛ»: № 2007132862/28; заявл. 24.08.07; опубл. 27.03.2009.
13. Цюпко, Т.Г. Электрофоретическое определение галловой кислоты в коньяках/ Т.Г. Цюпко, И.Н. Гунькин, З.А. Темердашев // Заводская лаборатория. Диагностика материалов.– 2010.– Т.76.– №12. – С. 15-20.
14. Яшин, Я.И. Газовая хроматография / Я.И. Яшин, Е.Я. Яшин, А.Я. Яшин. – М.: Транслит, 2009. – 528 с.