

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский
институт садоводства и виноградарства»

На правах рукописи



ЯКУБА Юрий Федорович

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ВИННЫХ ДИСТИЛЛЯТОВ
И ВИНОГРАДНЫХ ВИН. ПРОБЛЕМЫ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ
РЕШЕНИЯ**

02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
доктора химических наук

Научный консультант:
доктор химических наук, профессор
Темердашев Зауаль Ахлоевич

Краснодар – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	14
1.1 Химический состав вин и его влияние на качество напитка.....	15
1.2 Методические подходы к оценке качества вин.....	26
1.3 Контроль качества и анализ вин и виноматериалов.....	33
1.4 Хроматографические методы в анализе и идентификации виноградных вин.....	35
1.5 Газохроматографические методы.....	35
1.6 Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	38
1.7 Капиллярный электрофорез.....	42
1.8 Выводы к аналитическому обзору и постановка задач исследования..	48
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	50
2.1 Объекты и методы исследований.....	50
2.1.1 Оборудование	50
2.1.2 Реактивы и материалы.....	51
2.1.3 Объекты исследования.....	55
2.1.4 Методы исследований.....	55
2.2 Разработка современных методик анализа вина. Обоснование методов анализа.....	57
2.2.1 Газохроматографическое определение компонентов дистиллятов и виноградных вин.....	68
2.2.2 Методические подходы к газохроматографическому определению летучих компонентов винных дистиллятов и виноградного вина.....	68
2.2.3 Определение летучих компонентов виноградных дистиллятов.....	74
2.2.4 Химический состав спирта-сырца, выработанного различными	

	предприятиями Краснодарского края в 1997–2006 гг.....	83
2.3	Электрофоретическое определение ионных компонентов виноградных вин.....	88
2.3.1	Электрофоретическое определение калия, натрия, магния, кальция, аммония, общего азота.....	88
2.3.2	Обоснование условий электрофоретического определения катионов в винодельческой продукции.....	89
2.3.3	Разработка методики электрофоретического определения аммонийного азота.....	94
2.3.4	Обоснование условий электрофоретического определения аммонийного азота.....	100
2.4	Электрофоретическое определение основных неорганических ионов хлорида, сульфата, нитрата, нитрита.....	109
2.4.1	Разработка электрофоретической методики определения общего фосфора в пробах вина.....	116
2.4.2	Разработка условий определения общего фосфора в виде фосфата методом капиллярного электрофореза.....	119
2.4.3	Определение массовой концентрации приоритетных аминокислот вина.....	138
2.4.4	Разработка методики определения массовой концентрации фенилаланина, триптофана и тирозина.....	150
2.4.5	Электрофоретическое определение углеводов.....	156
2.4.6	Установление метрологических характеристик методики выполнения измерения углеводов.....	168
2.5	Установление критериев и подходов комплексной идентификации натуральности вина.....	174
2.5.1	Идентификация натуральности вина по электрофоретическому профилю содержания калия.....	174
2.5.2	Установление качества виноградного вина по содержанию в нем	

	многоатомных спиртов.....	177
2.5.3	Идентификация виноградного вина по интегральному профилю содержания в нем фенольных веществ.....	182
2.6	Вкусовая оценка качества натуральных вин с использованием методов математической статистики.....	191
2.7	Вероятностно-статистическое моделирование органолептических качеств виноградных вин.....	202
2.7.1	Выбор предикторов для вероятностно-статистического моделирования.....	202
2.7.2	Вероятностно-статистическое моделирование органолептической характеристики	205
2.7.3	Классификационный анализ для оценки качества виноградных вин в номинальной шкале.....	214
2.7.4	Применение дискриминантного анализа и метода общих линейных моделей для оценки качества вина.....	227
2.7.5	Применение позиционного анализа как метода оценки согласованности экспертных оценок.....	233
2.7.6	Итоговая оценка экспертизы при помощи метрики многомерного пространства.....	251
2.7.7	Использование модели логит регрессии для идентификации фальсификатов вин.....	260
3	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	269
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	272
	ПРИЛОЖЕНИЕ.....	304

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ГХ – газовая хроматография
Дал – декалитр
Б.с. – безводный спирт
СВЧ – сверх-высокая частота
ЯМР – ядерный магнитный резонанс
ПЦР – полимеразы цепная реакция
Мкг – микрограмм
ВЭЖХ – высоко-эффективная жидкостная хроматография
ДМД – диодно-матричный детектор
ГХ-МС – газовая хроматография – масс-спектрометрия
ТФЭ – твердо-фазовая экстракция
КЭ – капиллярный электрофорез
ТСХ – тонкослойная хроматография
в.д. – внутренний диаметр
кВ – киловольт
нм – нанометр
мм – миллиметр
УФ – ультрафиолетовый
ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид
ЦТАБ-ОН – цетилтриметиламмоний бромид основание
ПЭГ – полиэтиленгликоль
ФЭК – фотоэлектроколориметр
СФ – спектрофотометр
НД – нормативный документ
ИВА – инверсионная вольт-амперометрия
кПа – килопаскаль
НЖФ – неподвижная жидкая фаза
ЖКС – желтая кровяная соль
ГСО – государственный стандартный образец
мБар – миллибар
мкА – микроампер
мкм – микрометр
кПа – килопаскаль

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы во многих странах мира проблема натуральности пищевой продукции приобретает особую актуальность, в огромной степени это относится к виноградным винам различных категорий. Именно стремление населения развитых стран мира к более здоровому образу жизни породило проблему возврата к натуральности пищевых продуктов – зеленой линии производства (в частности биовино). В связи с этим возникает необходимость внести ясность в определение термина «натуральность» – под натуральностью понимается производство пищевых продуктов без применения различных искусственных добавок [1]. Подлинный пищевой продукт – тот, для которого значения и количество физико-химических параметров продукта соответствуют значениям и количеству, установленным нормативно-техническими документами [2]. В идеале натуральными пищевыми продуктами можно считать те, которые выработаны из пищевого сырья, полученного без применения искусственных препаратов. Методология контроля аналитической химии, базирующаяся на идентификации вин по ограниченному числу феноменологически подобранных параметров, не дает какой-либо уверенности в правильности сделанных выводов; более обоснована методология контроля, основанная, например, на распознавании вина как целого, путем создания «образа» контролируемого вина на основе вычисленных признаков [3].

Применяемые в производстве вин различные искусственно вырабатываемые пищевые добавки и наполнители – красители, ароматизаторы, эмульгаторы, стабилизаторы цвета и вкуса – по мнению многих специалистов, не всегда удовлетворяют санитарным нормам, как и некоторые новые методы обработки пищевого сырья. Исходя из чисто экономических соображений, предприятия для выпуска известных марок используют более дешевое сырье регионов, не имеющих традиций виноделия, менее качественные пищевые добавки и упрощенные технологии.

Проблема качества и натуральности винодельческой продукции вызвана, в первую очередь, двумя факторами: внедрением упрощенных технологий с нарушением регламента и практически неконтролируемым составом применяемых вспомогательных материалов [4]. Получаемые таким образом вино, спирт, ингредиенты обладают неудовлетворительной вкусовой характеристикой, могут стать причиной отравлений из-за наличия химических соединений, обладающих собственной токсичностью или же компонентами, усиливающими токсическое действие этанола. Содержание основных ионных компонентов виноградных красных вин зависит от технологических приемов [5]. Для вина типа портвейн или ликерных, в отличие от столовых, важная составляющая часть – винные дистилляты и зерновой спирт-ректификат, обеспечивающие натуральность продукции. В то же время технологические процессы получения вина типа портвейн, предусматривающие тепловую обработку, внесение винных дистиллятов, приводят к значительным изменениям качественного и количественного состава летучих, ионных, биологически активных веществ вина, при этом глубина процесса контролируется методом органолептического анализа, которому свойственна субъективность.

Получение винных дистиллятов предполагает создание экологически безвредных малоотходных и безотходных производств, включает рациональное использование сырья и энергии в цикле: ресурсы – производство – потребление – ресурсы, экономию не возобновляемых ресурсов, надежную защиту окружающей среды. Комплексная переработка отходов означает оправданное использование всех полезных компонентов, содержащихся в сырье, обеспечивает увеличение объема и расширение ассортимента продукции [6, 7]. Снижение коэффициента использования вторичного сырья приводит к росту массы отходов и создает реальную экологическую проблему. В соответствии с декларацией ЕЭС (1977 г.), безотходная технология определяется как «практическое применение знаний, методов и средств с тем, чтобы в рамках потребностей человека обеспечить рациональное использование природных ресурсов и энергии и защитить

окружающую среду» [8].

В Италии, Франции, США, Аргентине получение спирта из виноградных выжимок является обязательным: для обеспечения полной натуральности виноградных вин применяют спирт виноградного происхождения [9, 10]. Кроме того, спирт из выжимок находит широкое распространение в Южной Европе (Болгария, Италия, Румыния и др.) в производстве специальных марок водки и крепких напитков [11, 12].

В Краснодарском крае, согласно отчетности за 2000–2012 гг. из 145 тыс. т (2013–2015 гг. – 180–200 тыс. т) среднегодовой переработки винограда выжимка составляет порядка 18–25 тыс. т, из которой потенциально можно получить 40,5–55 тыс. дал б.с. с учетом нормативного коэффициента выхода спирта из тонны выжимок 2,25 дал б.с. Для этого объема переработки винограда количество дрожжевых и гущевых осадков составляет примерно 650 тыс. дал, из которых может быть получено порядка 49 тыс. дал б.с. из расчета содержания 7,5 дал б.с. в 100 дал осадков. Из 100 дал дрожжевых и гущевых осадков выход спирта-сырца нормирован на уровне 0,87 дал б.с. на каждый процент объемной доли спирта в осадках, а при наличии сахара пересчет его в спирт производят умножением числового значения массовой концентрации сахара в г/100см³ на 0,5. Таким образом, потенциальная выработка спирта из вторичных ресурсов на предприятиях Краснодарского края может составить около 90 тыс. дал б.с., что достаточно для производства примерно 15% существующих объемов вина типа портвейн в Краснодарском крае.

В ведущих европейских странах 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, включающий контроль традиционных показателей и специальных (сахарозы, глюкозы, фруктозы, катионов металлов, анионов, глицерина, зольности, щелочности золь). Данные критерии оценки качества не

всегда востребованы в отечественной технологии. Но с помощью перечисленных критериев, а также дополнительно разработанных и обоснованных становится вполне реальной возможность установления качества и натуральности продукции на всей линии производства. С другой стороны, требуется методическое обоснование, систематизация, модификация и разработка новых решений существующих проблем. Аналитический контроль качества виноградного вина обеспечивается на сегодняшний день официальными нормативными документами Российской Федерации, которые частично гармонизированы с директивами международной организации виноградарства и виноделия МОВВ – (OIV) [13]. Эти документы регламентируют различные приемы и методические подходы к подготовке и анализу испытуемых образцов. Процедура анализа вин согласно этим нормативным документам подразумевает использование различных вариантов подготовки проб (прямая дистилляция, дистилляция с водяным паром, различные варианты экстракции, сухое, мокрое, СВЧ озонирование и др.) и детектирование различными методами анализа (классические химические, спектроскопические, абсорбционные, эмиссионные, вольтамперметрические, ферментативные, изотопные, визуальные, органолептические, различные варианты хроматографических методов) [13, 14]. Выявлено, что современные экспрессные инструментальные методы контроля известны только для вина и сусле, обладают ограниченным количеством сравниваемых показателей; совершенно не пригодны для исследований вспомогательных материалов, экстрактов, концентратов. На фоне многих сотен компонентов вина этого явно не достаточно ввиду подверженности параметров естественному изменению или фальсификации. Быстродействующие современные анализаторы выдают ограниченное число параметров, недостаточно приспособлены к скрининговому контролю, подвержены влиянию внешних факторов.

Существенный вклад в решение проблемы управления качеством внесли Кантере В.М., Матисон В.А., Cooper R., Gacula M., Косюра В.Т. и другие. Для виноделия особую значимость представляют исследования Агабальянца Г.Г.,

Егорова И.А., Скурихина И.М., Оганесянца Л.А., Гугучкиной Т.И., Агеевой Н.М., Хнабахова Т.С. и других. Таким образом, разработка и обоснование методического подхода, установление критериев качества и натуральности (типичности), аналитических методов контроля технологически важных показателей виноградного вина, дистиллятов в свете применения новых технологических решений является актуальной задачей.

Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательских работ ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии на 1997–2005 гг. и 2005–2010 гг. по теме: «Разработать комплексные высокоэффективные типовые технологии производства и стабилизации виноградных вин с использованием новых и перспективных сортов винограда и новейших способов физико-химических воздействий», 2011–2015 гг. «Разработка и совершенствование инструментальных методов анализа для изучения производственного процесса в био, агроценозах и перерабатывающих технологиях», договором № 10-97 с МСХ РФ «Совершенствовать способы производства винных дистиллятов и разработать технологию специальных вин и напитков на их основе».

Научная новизна. Предложен и теоретически обоснован научно-методический подход по установлению качества виноградных вин регионального происхождения, способов их комплексной идентификации, получению аналитической характеристики методами физико-химического анализа и вероятностно-статистического моделирования.

Разработан и реализован комплекс авторских современных методик капиллярной газовой хроматографии, высокоэффективного капиллярного электрофореза для контроля качества виноградного спирта-сырца и винного дистиллята.

Обоснованы критерии и подходы для комплексной идентификации, оценки натуральности виноградных вин и винных дистиллятов, включающие установление характерных веществ, содержащихся в виноградных винах, определение нижних и верхних концентрационных пределов содержаний этих

соединений, формирующих характерные профили категорий качества вин – высокое, среднее, низкое.

С использованием современных методов статистического анализа выявлены комплексные показатели качества вин, базирующиеся на совокупности количественных характеристик единичных показателей и их органолептической оценки, на основании которых построены регрессионные модели, позволяющие с высокой достоверностью вычислить дегустационные оценки виноградных вин в заданных границах содержания.

Для различных категорий виноградных вин – от высокого качества до фальсификатов – с использованием методов дискриминантного анализа и общей линейной модели при известных содержаниях летучих веществ в вине – ацетальдегида, этилацетата, метанола, фурфурола, высших спиртов, уксусной кислоты построена линейная модель для определения качества виноградных вин в номинальной шкале с последующим достоверным прогнозированием дегустационной оценки и аналогично для экстрактивных веществ – приоритетных аминокислот и катионов.

Разработан статистический метод интегральной оценки результатов экспертных (дегустационных) оценок, основанный на представлении объектов экспертизы (вин) в виде точек многомерного пространства в системе координат с осями, соответствующими оценкам экспертов в балльной шкале.

Практическая значимость работы. Разработан и внедрен ряд оригинальных аналитических решений для контроля компонентного состава виноградных вин методами капиллярной газовой хроматографии и капиллярного электрофореза: РД 50.27.15.18/0001-03 «Методика оценки подлинности вина. Красные сухие вина и виноматериалы», РД 50.27.15.18/0002-03 «Методика оценки подлинности вина. Белые сухие вина и виноматериалы», РД 50.27.15.18/0003-03 «Методика оценки подлинности вина. Шампанские и игристые вина и виноматериалы», РД 50.27.15.18/0004-03 «Методика оценки подлинности вина. Вина натуральные полусладкие и специальных технологий»,

«Методика выполнения измерений массовой концентрации хлорид, нитрит, нитрат и сульфат-ионов в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза», № 60-10; «Методика выполнения измерений массовой концентрации ионов аммония, калия, натрия, магния и кальция в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза», № 60-11.

На основе разработанных и метрологически аттестованных методик контроля и анализа вин и виноматериалов утверждены и внедрены национальные стандарты ГОСТ Р 52841-2007 «Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза» и ГОСТ 51298-99 «Винные дистилляты. Технические условия».

Создана система оценки натуральности виноградных вин инструментальными методами анализа, по результатам которых разработана и внедрена технология контроля и производства винных дистиллятов и вина на предприятиях АФ «Южная», ЗАО «Победа», АОЗТ «Кубань» (Краснодарский край), АОЗТ «Виноград» (Кабардино-Балкарская Республика).

Разработан алгоритм и построена программа, позволяющая по концентрациям летучих веществ автоматизировать процедуру идентификации качества вин в номинальной шкале – высокое, среднее, низкое, фальсификат и прогнозирования дегустационной оценки.

На основании метода бинарных откликов – логистической регрессии разработан алгоритм и построена программа, позволяющая по концентрациям летучих компонентов автоматизировать процедуру идентификации натуральных вин и фальсификатов.

Апробация работы. Основные положения диссертации обсуждены на XVI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии «Химия и проблемы экологии, анализ и контроль объектов окружающей среды» (г. Санкт-Петербург, 1998 г.), Научной конференции ученых и специалистов Северного Кавказа «Ресурсосбережение и экология в адаптивной системе садоводства и виноградарства», Международной научно-практической конференции

«Садоводство и виноградарство 21 века» (г. Краснодар, 1999 г.), на 1-й и 3-й Научно-практических конференциях Мосалкогольконтроля «Идентификация качества и безопасность алкогольной продукции» (г. Пущино, 1999, 2001 гг.), Международной научной конференции «Экологические и гидрометеорологические проблемы больших городов и промышленных зон» (г. Санкт-Петербург, 2000, 2001 гг.), Международной научно-практической конференции «Все о виноделии и для виноделов» (Молдавия, г. Кишинев, 2005 г.), Международной научно-практической конференции «Пищевые продукты XXI века», (г. Москва, 2001 г.), II Международной конференции «Современное приборное обеспечение и методы анализа почв, кормов, растений и сельскохозяйственного сырья» (г. Москва, 2004 г.), Международной конференции «Аналитические методы измерения и приборы в пищевой промышленности» (г. Москва, 2005, 2006 гг.), Втором Международном форуме «Аналитика и аналитики», IV Международной конференции «Экстракция органических соединений» (г. Воронеж, 2008, 2010 гг.), I и III Международных симпозиумах «Разделение и концентрирование в аналитической химии» (г. Краснодар, 2002, 2011 гг.), 1-й и 2-й Всероссийских конференциях «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», (г. Краснодар, 2010, 2013 гг.), IV Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (г. Краснодар, 2014 г.), Всероссийском научно-практическом семинаре, посвященном Пятидесятилетию Федерального бюджетного учреждения Краснодарская лаборатория судебной экспертизы Министерства юстиции Российской Федерации «Современные проблемы криминалистической экспертизы материалов, веществ и изделий» (г. Краснодар, 2012 г.), XII Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в пищевой промышленности» (Минск, 2013 г.), Международной конференции «Wine active compounds 2014», Session IV, Health-related active compounds (Франция, 2014 г.). Новизна технических решений отражена в 10 патентах на изобретения и полезные модели РФ.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Мировое производство технических сортов винограда подвержено изменению, на сегодняшний день первое место в мире по площади виноградников занимает Испания, второе – Китай (на 95% столовые сорта), третье – Франция. В период с 2000 по 2007 гг. экспорт вина в Европу, включая Россию, из Австралии вырос в 6 раз, Южно-Африканской Республики – в 15 раз; [15–19]. В Испании с 2007 г. активно проводится антиалкогольная кампания с целью повышения культуры виноделия и улучшения качества вина собственного производства. В Краснодарском крае производство технических сортов винограда составляет около 180 тыс. т/год, а мощности перерабатывающих предприятий позволяют перерабатывать 500 тыс. т, что способствует экспорту значительного количества виноматериалов из регионов, не имеющих признанных традиций виноделия [20]. В этой ситуации широкое применение находят ускоренные технологии производства вин, включающие использование различных пищевых добавок, на качество виноматериалов в РФ существенно начинает сказываться недостаточный уровень развития собственной сырьевой базы и практически неконтролируемый состав применяемых вспомогательных материалов [21]. Все эти аспекты вызывают определенные проблемы обеспечения качества и натуральности всего ассортимента производимой и ввозимой на территорию РФ винодельческой продукции.

1.1 Химический состав вин и его влияние на качество напитка

Виноград и винодельческая продукция в своем составе содержат несколько сотен соединений, из которых особый интерес представляют ионные, фенольные, биологически активные вещества с бактерицидными, антиоксидантными и другими функциональными свойствами, оказывающими существенное влияние на здоровье человека.

Сок виноградной ягоды содержит разнообразные белковые вещества, пептиды и продукты их гидролиза (вплоть до аминокислот), а также амиды кислот, аммиак, нитраты и значительные количества глюкозы и фруктозы [22]. Азотистые вещества виноградного сусла представлены пептидами, которые под влиянием естественной кислотности вина и, особенно, при повышенных температурах гидролизуются под воздействием протеолитических ферментов до аминокислот [23–24], содержания и соотношения которых определяют качественные характеристики вин.

Белки и пептиды, содержащиеся в вине, играют важную роль в формировании аромата и полноты вкуса, они также обеспечивают пенообразование для игристых вин. В целом, летучие и нелетучие компоненты вина находятся в постоянной связи и взаимодействии и характеризуют качество вин. Они определяют ароматические и вкусовые характеристики, летучие по большей части характеризуют ароматические параметры, нелетучие – вкусовые.

Получающиеся в процессе алкогольного брожения виноградного сусла летучие компоненты отличаются разнообразием и оказывают решающее влияние на органолептическую оценку. Среди них преобладают спирты, альдегиды жирного и ароматического рядов, летучие кислоты, простые и сложные эфиры. Качество исходного виноградного сырья и используемых вспомогательных материалов, технологические операции во многом формируют химический состав

и органолептические показатели винодельческой продукции. Так, метиловый и пропиловый спирты при их содержаниях соответственно до 1000 и 50 мг/дм³ б.с. не влияют на органолептические характеристики вин, однако обладают высокой токсичностью. Например, метанол в 80 раз, а пропанол в 4 раза токсичнее этилового спирта [25]. В последнее время отмечают присутствие в винах 2-пропанола, который при концентрациях до 100 мг/дм³ не оказывает влияния на органолептическую оценку, однако считается достаточно токсичным соединением – постепенно трансформируется в ацетон и кротоновый альдегид [26].

Важной постоянной составной частью вина, дистиллятов и других продуктов алкогольного брожения являются спирты предельного ряда с числом атомов углерода больше трех. Источником высших спиртов являются аминокислоты, которые подвергаются реакции дезаминирования [27, 28]. В свою очередь, количество аминокислот зависит от качества сырья, вида дрожжей и способа брожения. При этом изомерные спирты обладают более приятным запахом, чем спирты нормального строения, а вторичные спирты имеют более слабый запах, чем изомерные первичные спирты. В запахе третичных спиртов появляются характерные технические тона. 1-бутанол, 1-амилол, 1-гексанол, 1-гептанол характеризуются типичным сивушным тоном и жгучим вкусом, а изомерные спирты с числом атомов углерода более семи придают продукции парфюмерные тона.

Целый ряд многоатомных спиртов характерен для виноградных вин различных категорий – глицерин, 2,3-бутандиол, 1,2-пропиленгликоль, 1,3-пропиленгликоль и, в незначительных количествах, их ацетатные эфиры. Однако особое внимание обращают на содержание в них глицерина и 1,2-пропиленгликоля. Значительные количества глицерина, 1,2-пропиленгликоля потребляются пищевой индустрией, косметической промышленностью, дополнительно 1,2-пропиленгликоль используется как низкотоксичный антифриз и растворитель [29]. Дрожжи определенных рас способны продуцировать его из

глицерина, в значительной степени это достигается с помощью генной инженерии. На данном этапе развития технологий основным носителем ароматизаторов (растворителем) принято считать 1,2-пропиленгликоль, хотя определенную долю конкуренции ему составляет бензиловый спирт и 2-пропанол. Нормативными документами Евросоюза (период 2000–2015 гг.) его концентрация ограничена для сухих, полусухих, полусладких, сладких виноградных вин на уровне 150 мг/дм^3 , для шампанских – 300 мг/дм^3 [30]. Проведенные эксперименты показывают, что концентрация 1,2-пропиленгликоля в натуральных винах практически никогда не превышает 100 мг/дм^3 , хотя не исключено, что расы дрожжей новых способов селекции или полученные в результате использования генетических модификаций могут значительно повысить его концентрацию.

Важным компонентом алкогольного брожения являются альдегиды предельного ряда, которые придают вину резкий аромат, привкус и горечь. Неприятный запах и жгучий вкус создают непредельные соединения – акролеин и кротоновый альдегид, наличие последнего в винах является весьма спорным. Напротив, предельные альдегиды, например, изомасляный, изовалериановый, капроновый и каприновый, способствуют появлению приятного фруктового или плодового аромата и формируют аромат виноградных вин. Основная доля от суммарного содержания альдегидов в дистилляте или вине приходится на уксусный альдегид и составляет примерно 85–90%, при возможности роста его концентрации за счет окисления этилового спирта. Часто развитие нежелательных процессов, отрицательно влияющих на органолептические свойства вина, оценивают по содержанию следующих компонентов: скисание по содержанию уксусной кислоты более 700 мг/дм^3 , повышенному накоплению ее эфиров; яблочно-молочное брожение при наличии этиллактата более 250 мг/дм^3 [31]. Установлено присутствие в виноградных винах, спиртах-сырцах и дистиллятах продуктов конденсации уксусного альдегида: простейшего diketона – диацетила и ацетона, которые, в свою очередь, подвержены

окислению и разложению до уксусной кислоты. Фактически это еще один путь обогащения вина уксусной кислотой.

Согласно литературным данным [32, 33], основное количество сложных эфиров образуется в процессе брожения и обуславливается расой дрожжей, способом и температурой брожения, в случае получения дистиллятов большая часть эфиров переходит в спирт-сырец, придавая ему специфические оттенки во вкусе и аромате. Характерным для натурального вина является наличие сложных эфиров – метилацетата и этилацетата, концентрации которых постепенно изменяются за счет реакций соответствующих кислот со спиртами. Эти эфиры при их содержаниях на уровне 5–100 мг/дм³ благоприятно отражаются на органолептических свойствах продукции: усиливают и обогащают винный аромат.

При относительно высокой концентрации уксусного альдегида в процессе хранения вина происходит реакция альдегида со спиртами, концентрация ацеталей постоянно возрастает. Содержание ацеталей характеризует качество исходного сырья, используемого для получения виноградного вина, их избыток свидетельствует о низком качестве сусла.

В спиртах-сырцах, в отличие от натурального вина, ацетали присутствуют в значительных количествах, причем в наибольшем – этилацеталь. Ацетали устойчивы к действию окислителей, медленно подвергаются гидролизу при существующей кислотности вина и нормальных условиях хранения.

Постоянным компонентом вина, винных дистиллятов является представитель фуранового ряда – фурфурол, который в пределах до 30 мг/дм³ дает приятный аромат ржаного хлеба. Двукратное и более превышение его содержания приводит к неприятным тонам во вкусе. Фурфурол развивается при длительном контакте виноматериалов с осадком дрожжей, некачественном освещении от взвешенных частиц или фильтрации материалов, высокой температуре брожения сусла. Одним из путей образования фурфурола является реакция Майяра, то есть меланоидинообразование, зависящее от остаточной

концентрации сахаров [33]. Основное содержание фурфурола в вине, по мнению В.Н. Стабникова, В.А. Маринченко и др. [34–36], образуется из пентоз по оксиметилфурфурольной реакции. Для вин с остаточным содержанием сахара характерно появление производных фурфурола – метилфурфурола и гидрооксиметилфурфурола.

В составе летучих компонентов вина идентифицированы уксусная, муравьиная, пропионовая, изомаляновая, масляная, изовалериановая, капроновая и каприловая кислоты. В процессе брожения, хранения или последующих технологических операциях из летучих кислот наибольшим изменениям подвергается содержание уксусной кислоты, характеризующей условия проведения процесса брожения, чистоту дрожжей, качество сусла, степень его подготовки и т.д. Тихие вина всегда содержат некоторое количество остаточной углекислоты в форме ассоциатов и растворенного углекислого газа, достаточно нейтрального характера [22, 24]. Летучие кислоты, как правило, ухудшают органолептические свойства вина и дистиллята: муравьиная кислота придает ему резкий привкус, пропионовая – горечь и резкий неприятный запах, более сильный, чем уксусная кислота; масляная – неприятный, резкий запах прогоркшего масла, она способствует появлению горечи; валериановая кислота обладает запахом корней валерианы с примесью запаха уксусной кислоты. Появление и трансформация более высокомолекулярных кислот чаще всего связаны с хранением или длительной выдержкой вина в контакте с дубовой тарой, частично они образуются по реакциям конденсации.

Многочисленные терпеновые производные и спирты ароматического ряда в большей мере характеризуют сортовые особенности винограда. Применение генной инженерии в культивировании дрожжей может исключать этот фактор и формировать из некачественных материалов типичность высококачественных сортов вин. 2-фенилэтанол является неотъемлемой частью дистиллятов и виноградных вин, обладает при разбавлении запахом роз с медовыми оттенками, как альдегид и ацетатный эфир, имеющие аналогичный более

выраженный аромат. Порог восприятия обоих производных составляет доли мг/дм³, а концентрации достигают нескольких десятков мг/дм³. Аналогичными свойствами обладают тирозол, его ацетатный эфир и альдегид.

В соке ягод винограда идентифицированы 32 аминокислоты [11], в том числе:

- нейтральные: глицин, α -аланин, β -аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин;
- серосодержащие: цистин, цистеин, метионин;
- двухосновные: аспарагиновая, глутаминовая, γ -аминомасляная кислоты, аспарагин и глутамин;
- основные: лизин, аргинин, гистидин;
- ароматические: фенилаланин, тирозин;
- гетероциклические: триптофан, пролин, оксипролин.

Приоритетными – по массовой концентрации – можно считать аргинин, пролин и треонин. Состав свободных аминокислот сока одного и того же сорта винограда, но в разные годы наблюдений, меняется в зависимости от стадии созревания, вида удобрений и других внешних факторов. Общее содержание азотистых веществ в ягодах (от 600 до 2400 мг/дм³), согласно исследованиям [37], формируют: глицин 3–13, аргинин – 152–327, валин – 41–95, серин – до 50, треонин – до 220, лизин – 11–20, фенилаланин – 29–78, гистидин – 117–143, тирозин – 7–49, пролин – 350, глутаминовая кислота – 335–1067, триптофан – 22–65 мг/дм³. Большую часть аминокислот сусла составляют пролин, треонин, глутаминовая кислота, α -аланин, аргинин, меньшую – серин, триптофан, глицин, валин, лейцин, аспарагиновая кислота и цистеин [38]. Семена содержат до 7% масс аминокислот, что обогащает пресловое сусло азотистыми веществами в отличие от сусла первого давления. Аминокислоты, прежде всего незаменимые (валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин и триптофан), определяют пищевую ценность белков. К их действию на организм человека относят образование гормонов щитовидной железы и адреналина,

синтез меланина, регуляцию скорости обмена веществ, уменьшение риска спазма артерий и сердечной мышцы, укрепление иммунной системы и снижение уровня холестерина, защиту мышечных тканей и снижение уровня сахара в крови, стимулирование выделения гормона роста и регуляцию обмена веществ, нормализацию метаболизма углеводов и нормального функционирования нервной системы [28].

Технологический запас аминокислот винограда претерпевает существенные изменения в процессе брожения, применения новых приемов обработки сула, в результате которых изменяются их состав и появляются вещества, отсутствующие на начальном этапе [39]. Это, в первую очередь, относится к накоплению высших спиртов за счет декарбоксилирования аминокислоты с образованием амина с последующим его дезаминированием и гидратированием в соответствующий спирт [33]. Второй путь – гидролитическое дезаминирование аминокислоты с образованием оксикислоты и аммиака. Далее оксикислота подвергается декарбоксилированию и восстановлению, переходит в соответствующий высший спирт. Таким образом, наличие аминокислот увеличивает содержание высших спиртов только до определенных пределов. В результате превращений из фенилаланина образуется 2-фенилэтанол [33], триптофан и тирозин участвуют в цикле трикарбоновых кислот. В результате превращений триптофана образуется никотиновая кислота (витамин РР), а тирозина – гидроксифенилэтиловый спирт (тирозол). Аргинин, пролин и треонин – основные аминокислоты виноградных вин, которые принимают непосредственное участие в формировании полноты вкуса и биологической ценности вина, особенно важна их роль в сахароаминной реакции, свойственной для технологии ликерных и крепленых вин [40, 41]. Значительную часть азотистых веществ вина составляют пептиды, являющиеся источником свободных аминокислот в вине за счет гидролиза под действием естественных кислот вина и ферментативным путем. Эти процессы и обуславливают увеличение содержания свободных аминокислот в процессе выдержки вина.

Пептиды, могут так же, как и протеин, подвергаться гидролизу, участвовать в реакциях с углеводами, фенольными соединениями, органическими кислотами с последующим выпадением образовавшихся комплексов в осадок. По сравнению с другими аминокислотами, концентрация пролина в вине наибольшая в силу того, что винные дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) метаболизируют при обмене веществ, пролин – только при условиях серьезного недостатка азотного питания [41].

Исследования авторов [42–46] показали, что цвет красного вина зависит от типа и концентрации антоцианинов. Г.Г. Ватуйко и др. отметили, что из мезги в виноматериал переходит 82,1–84,3% фенольных веществ, а в процессе выдержки виноматериала на мезге их содержание уменьшается на 27,5–28,9% [47, 48]. Цвет молодых вин зависит главным образом от свободных антоцианинов. В процессе хранения вина эти соединения подвергаются некоторым изменениям, которые могут приводить к потере цвета или его стабилизации. Полимеризация между антоцианинами и танинами важна для стабилизации цвета вина [49].

Весьма разнообразны фенольные вещества, входящие в состав виноградного вина. В начале созревания ягоды винограда содержат максимальное количество фенольных соединений, концентрация которых уменьшается по мере созревания. Причем снижение содержания мономеров флаван-3-олов происходит наиболее быстро. Темп снижения и фракционный состав фенольных соединений зависят от сорта, зрелости ягод и условий выращивания. При созревании ягод концентрация танинов в кожце ягод повышается, а изменение содержания танинов в семенах связано с их полимеризацией [49]. Увеличение концентраций антоцианинов происходит в ответ на холод и недостаток фосфатов [50, 51], кроме того, низкий уровень железа может вызывать увеличенное накопление фенольных кислот. Низкое содержание азота стимулирует выработку флавоноидов и изофлавоноидов [52]. Обработка винограда комплексными препаратами, содержащими азот, сокращает

содержание антоцианинов в ягодах и задерживает вызревание [53]. В.И. Тютюнник [54] была установлена прямая количественная зависимость антоцианов, сахаров и рН сока ягоды.

Результаты исследований [55], проведенных в разные по метеоусловиям годы, показали, что содержание красящих веществ в ягоде винограда напрямую зависит от количества атмосферных осадков и относительной влажности воздуха в период, предшествующий началу созревания, причем наибольшее накопление углеводов отмечено для рН равным 3,05–3,06.

Антоцианины также подвергаются химическим преобразованиям, приводящим к образованию новых пигментов, ответственных за изменение цвета и стойкость вина. Ацетальдегид, α -кетоглутаровая кислота, пируваткислоты, винилфенол, винилкатехол, ацетон, 4-винилпваякол, катехин и другие приводят к образованию новых классов пигментов – пураноантоцианинов [55]. Для усиления окраски мезгу обрабатывают сернистым ангидридом, который инактивирует действие окислительных ферментов. В начале обработки интенсивность окраски несколько уменьшается, но в конце полностью восстанавливается. В данном случае сернистый ангидрид (до 200 мг/дм³) подавляет действие оксидаз, тем самым предохраняя красящие вещества от окисления. Вина с высоким содержанием сернистого ангидрида содержат больше антоцианинов. Влияние ангидрида на экстракцию мономерных антоцианинов зависит от природы каждого антоцианина и сорта винограда [56]. Диффузию содержащихся в кожице красящих веществ стимулируют нагреванием винограда или мезги (до 45–50°C, иногда до 70°C в течение 0,5–3 ч), спиртованием мезги, обработкой электрическим током низких и высоких частот, ультразвуком, ферментными пектолитическими препаратами [57]. Мацерация под давлением углекислоты с использованием сухой лозы винограда в процессе ферментации красного вина повышает интенсивность окраски, содержание и степень полимеризации фенольных соединений в вине, по сравнению с классической технологией приготовления [58].

В процессе хранения в бочках фенольные вещества дуба мигрируют в вино в виде гидролизированных танинов или нефлавоноидов, образуя ванилин, бутиролактоны, ванилиновую, сиреневую, галловую, эллаговую кислоту, кониферилловый, синаповый альдегиды и кумарины [33, 59]. Взаимодействие кислорода, вина и древесины приводит к контролируемому окислению, которое уменьшает вяжущий привкус и увеличивает цветостойкость красного цвета, вследствие увеличения реакций конденсации между антоцианинами и молекулами танинов в присутствии ацетальдегида. Причем вино при выдержке в контакте с дубовой щепой быстрее созревает и в большей степени подвержено полимеризации, чем вино, выдерживаемое в дубовых бочках [60].

Катехины и их продукты конденсации способны реагировать с аминокислотами, органическими кислотами, альдегидами, сернистой кислотой, катионами железа, кальция, калия и др. Эти реакции также приводят к образованию труднорастворимых соединений, способных выпадать в осадок и изменять исходный химический состав. При созревании вина наблюдается полимеризация антоцианов независимо от содержания кислорода, хотя она и ускоряется в его присутствии. Лейкоантоцианидины в вине находятся большей частью в полимерной форме и заметного снижения их количества не обнаружено. Флавоны и флавонолы, подобно катехинам и антоцианам, подвергаются полимеризации и большая их часть выпадает в осадок [61]. Структура танинов в процессе созревания значительно меняется, при этом важное значение имеет их окислительная конденсация, усиливающая собственный цвет танинов.

В ходе брожения окрашенного сула происходит снижение количества антоцианов на 40%. Максимум снижения бывает в начале и в конце брожения (при спиртуозности 3–9–12% об). В середине брожения содержание антоцианов почти не изменяется. Уменьшение антоцианов происходит, главным образом, за счет конденсации уксусного альдегида с красящими веществами [23]. Ацетальдегид играет важную роль в конденсации флаванолов в присутствии антоцианов, давая, в конечном счете, различные олиго- и полимеры. Эти реакции

и приводят к снижению терпкости и изменению цвета красного вина, которые наблюдаются при его созревании. Обнаружены также три- и тетрамерные продукты, содержащие 1-антоциан и 1,2,3-флавонольные субъединицы. Однако соединений, содержащих, более 2 антоцианов, обнаружено не было, что говорит о том, что процесс полимеризации прекращается, когда в полученном соединении уже имеются 2 субъединицы мальвидин-3-гликозида [62].

Снижение антоцианов при концентрации спирта 10% об через год хранения составляет 27%. Кроме того, аэрация усиливает распад красящих веществ, а насыщение двуокисью углерода и водородом стабилизирует окраску вин. Оптимальной дозой аскорбиновой кислоты для обеспечения стойкости вин является дозировка 50–100 мг/дм³, дальнейшее увеличение ее содержания усиливает распад красящих веществ в процессе хранения [23].

Ацилирование сахарных групп всех пигментов приводит к снижению их устойчивости в вине. Содержание продукта присоединения мальвидин-3-гликозида и пировиноградной кислоты и его ацилированных форм повышается после крепления вин этанолом, а затем снижается в течение 100 дней. Образование продуктов присоединения антоцианина и пировиноградной кислоты происходит одновременно с разложением антоцианидин моногликозидов [63]. Годичная выдержка не влияла на содержание красящих и фенольных веществ в винах из устойчивых сортов винограда, тогда как для контрольных вин их количество снижалось [64]. За время хранения вин происходило уменьшение концентраций галловой, кофейной, феруловой кислот, катехина, эпикатехина и транс-ресвертарола; содержание кафтаровой, кумаровой кислот оставалось неизменными. На содержание фенольных соединений в вине влияет раса дрожжей [64].

Витамины активно участвуют в ферментативных процессах, происходящих на разных этапах приготовления вин. В связи с этим они играют важную роль в формировании органолептических качеств молодого вина, входя в состав ферментов, катализирующих процессы обмена углеводов, азотистых веществ

(аминокислот), жирных кислот (пантотеновая кислота), пуриновых и пиримидиновых оснований (фолиевая кислота) и ОВ-процессов. Наличие витаминов группы В (инозит, биотин, пантотеновая кислота, тиамин, пиридоксин, тиамин) и витамина РР (никотиновая кислота) во многом определяет нормальный ход брожения, являясь основным фактором роста винных дрожжей. Особенности технологии приготовления виноградных вин влияют на состав всех компонентов, содержащихся в исходном сусле, значительные изменения происходят с ионными, биологически активными веществами и органическими кислотами вина.

1.2 Методические подходы к оценке качества виноградных вин

Использование при производстве вина большого разнообразия различных сортов винограда и процедур его переработки привело к увеличению предлагаемого на рынке ассортимента винодельческой продукции, что значительно расширило границы выбора напитка для потребителя. Несмотря на сложный химический состав натурального вина и большое разнообразие его типов, в последнее время виноградное вино все чаще становится объектом фальсификации. Определенный объем этой продукции составляет нелегально импортируемый, выведенный из-под акциза или произведенный под чужой торговой маркой алкоголь с нарушением авторских прав. Большую же часть контрафактной винодельческой продукции составляет суррогатная продукция и продукция, произведенная с нарушением основных правил и регламентов производства, принятых в России [65–70].

Возросшее число фальсификатов винодельческой продукции в России связано с недостаточной оперативностью разработки и актуализации отечественных нормативных документов, регламентирующих производство

и качество спиртосодержащей продукции. Положение усугубляется также постоянным совершенствованием методов химической фальсификации алкогольной продукции, адаптированных к действующим и разработанным методикам. Наиболее распространенными способами фальсификации винодельческой продукции являются [71–74]:

– предоставление неточной или неверной информации о наименовании, составе, производителе, месте производства, способе производства, используемом сырье, сроках производства и выдержки, а так же любой другой информации, относящейся к производству и реализации вина;

– добавление различных малоценных добавок, выжимок, соков, настоев;

– галлизация вина – разведение виноматериалов водой и малоценными настоями с последующим доведением сахаристости, кислотности, крепости «напитка» до определенных значений;

– шапталлизация вина – «исправление» недоброкачественного виноматериала за счет добавления щелочных агентов и сахара-рафинада до и после стадии брожения;

– петиотизация вина – многократное настаивание и дальнейшее сбраживание использованной виноградной мезги с добавлением сахарного сиропа и красителей;

– шеелизация или добавление глицерина;

– применение различных консервантов, красителей, ароматических добавок с целью исправления органолептических свойств или пороков напитка;

– добавление искусственного пищевого, технического, синтетического, а также денатурированного, этилового спирта;

– добавление вкусовых добавок (органических кислот, сахара-рафинада);

– приготовление искусственных вин;

– ложное купажирование.

При производстве суррогатного напитка одновременно может использоваться несколько способов фальсификации. Наиболее выгодным

считается производство напитка, визуально схожего с оригиналом, в котором натуральные виноматериалы полностью заменяются искусственными [75]. Такая продукция, как правило, обладает низкими органолептическими качествами и является наиболее опасной для здоровья потребителей. Товарно-партийная документация, используемая для реализации подобных «вин», производится на достаточно низком уровне, что упрощает процедуру выявления фальсификатов [76].

Оценка качества винодельческой продукции в России начинается с проведения товарно-партийной идентификации и осуществляется согласно действующим стандартам и нормативным документам [77, 78]. При этом экспертной комиссией проверяется наличие и соответствие этикетки, контрэтикетки, кольеретки, пробки, ассортимента заявленным требованиям. В России и странах ЕС для упрощения идентификации вин применяют специальные подписи и системы маркировки на этикетках и контрэтикетках, а также эмблемы качества, водяные знаки, голограммы и акцизные марки, труднодоступные для изготовления в кустарных условиях и служащие показателями подлинности и качества для покупателей (например, системы A.O.C. во Франции, D.O.C.G – в Италии, D.O.Ca – в Испании, Q.m.P/Q.b.A – в Германии) [71].

В комплексе с товарно-партийной идентификацией осуществляется квалиметрический контроль винодельческой продукции, основанный на определении основных физико-химических показателей вин: объемной доли этилового спирта, массовых концентраций сахаров, титруемых и летучих кислот, приведенного экстракта, лимонной кислоты, общего диоксида серы, содержания токсичных элементов и радионуклидов на соответствие действующим нормативным документам [79–93]. Регламентируемые ГОСТ испытания направлены в основном на контроль безопасности продукта и позволяют установить по массовой концентрации сахара и объемной доле этилового спирта соответствие напитка своей товарной группе. Массовые доли приведенного

экстракта и лимонной кислоты могут быть использованы в качестве идентификационных показателей продукта [94].

Для повышения надежности идентификации вин широко применяют органолептический метод контроля, позволяющий выявлять грубо сфальсифицированные вина, и, в сочетании с квалитметрическим анализом, комплексно охарактеризовать уровень качества продукта. В нашей стране дегустационному методу отводится одно из ведущих мест при оценке качества и подлинности вин [95–97], его проведение основано на общих нормативных документах [98, 99].

В странах Европейского союза испытания вин осуществляют по более чем 40 критериям, установленным Регламентом ЕС и рекомендациями Международной организации винограда и вина (МОВВ) [100, 101]. Отдельно следует выделить такие показатели, как содержание калия, железа, меди, свободного диоксида серы, сорбиновой кислоты, золы и ее щелочности, показатель Фолина-Чокальтеу, хроматический показатель и др., используемые для оценки качества и характера вин. Многие из них применяют и для установления подлинности продукта [94, 102, 103–108].

Наблюдающаяся тенденция развития способов химической и информационной фальсификации вин затрудняет выявление подобных подделок с использованием действующих в России и странах ЕС аттестованных методик, т.к. суррогатная алкогольная продукция по своим физико-химическим параметрам, как правило, соответствует установленным нормам. Для идентификации такого рода «напитков» в последнее время активно разрабатываются подходы, основанные на определении единичных показателей вин и их предельных значений, характеризующих подлинность продукта. Допустимые диапазоны их значений достаточно широки и могут отличаться для вин, произведенных по различной технологии и на разных территориях, что в некоторых случаях усложняет процедуру их идентификации. Более надежными и объективными показателями подлинности вин представляются критерии,

полученные на основе расчета соотношений между содержаниями различных химических соединений в напитке и/или другими физико-химическими показателями [102, 109, 110].

Многие исследователи подчеркивают целесообразность проведения комплексного анализа вин для установления их подлинности [111], что позволяет значительно повысить достоверность процедуры их идентификации по сравнению с описанными выше подходами. Для достижения этих целей существенно расширяется круг определяемых компонентов, разрабатываются и совершенствуются методики их детектирования с применением современных инструментальных методов анализа [3, 13, 31]. Качество и подлинность вин устанавливают по качественному и количественному содержанию в винах биогенных аминов [112–115], аминокислот [116, 117], органических кислот [118 – 120], полиолов [121], альдегидов [122 – 124] и ароматических кислот [124, 125], органических оксикислот [126], летучих соединений [104], глицерина [127, 128], подсластителей [129], консервантов [129], кофеина [129], синтетических ароматизаторов [127] и красителей [130], стабильных изотопов кислорода и углерода [131, 132], элементного состава [133 – 135]. Предпочтение в последние годы отдается методам ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии изотопных отношений, позволяющим определять содержание изотопов элементов (D, H, ^{13}C , ^{12}C , ^{18}O , ^{17}O) и их отношений ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, D/H, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$), благодаря возможности установления с их помощью происхождения компонентов в напитке (кислот, сахаров, спиртов, воды, глицерина и др.), и, как следствие, факт фальсификации [136–141]. По заявлениям ряда вышеперечисленных авторов, в некоторых случаях достигается уровень идентификации вин свыше 90%. Отечественными исследователями предложены способы определения происхождения спирта [110, 142] и углеводов в виноградном вине [143], основанные на установлении содержания изотопов углерода с помощью масс-спектрометров. Известно, что все растения классифицированы на 4 группы по особенностям усвоения изотопов углерода (основной источник – углекислый газ): C1, C2, C3, C4. К группе C3

относятся виноград, сахарная свекла, пшеница, картофель, ячмень, яблоки, именно этим объясняется сложность распознавания углеводов в сырье. Следует отметить, методический подход ГОСТ Р 32710-2014, предусматривающий анализ соотношения стабильных изотопов, регламентирует во введении весьма узкий доверительный диапазон: -26...-29 [110]. В обозначенный диапазон физически не могут попасть продукты переработки многочисленных сортов винограда из разных географических зон мирового производства, разрешенных к применению в виноделии [132].

Известны подходы по выявлению комплексных показателей качества, базирующиеся на совокупности количественных характеристик единичных параметров вин и их органолептической оценки, с использованием методов математического планирования и обработки данных [111, 123, 144–147].

Принципиально другой методологией контроля подлинности является распознавание вина как целого на основе анализа их «образов», отражающих качественный и количественный состав содержащихся в напитке высших спиртов, эфиров, альдегидов, терпенов, составляющих букет вина, а также органических кислот, аминокислот, фенольных соединений, сахаров, сложных эфиров высших кислот, обеспечивающих его вкус [148]. Идентификацию вин при этом осуществляют путем получения, обработки и сравнения характеристических профилей – электрофоретических [149–151], хроматографических [117, 124, 152], элементных [153, 154], а также спектров поглощения и/или эмиссии веществ в определенных диапазонах длин волн [155–157], соответствующих некоторому объекту с «нормой», с профилем веществ, присущему исследуемому вину [75]. Такой подход благодаря специфичности получаемых профилей образцов позволяет не только определять уровень качества вин и выявлять фальсификаты, но и подтверждать возраст напитка и идентифицировать вина, контролируемые по наименованию и происхождению.

Одной из задач оценки качества вин является установление возраста напитка [75, 158]. Разработку критериев зрелости винодельческой продукции

проводят на основе представлений о механизме созревания вин, в процессе которого происходит изменение их химического состава, главным образом, фенольных соединений [159], что приводит к изменению цветовых характеристик напитка. Исходя из этого, большинство подходов к установлению возраста вин основано на изучении их спектров поглощения в видимой области и определении отношения оптических плотностей при 420 и 520 нм [111, 159, 160], а также определении индексов химического возраста вин [161]. Кроме того, зрелость напитка подтверждают путем исследования в нем состава органических компонентов: аминокислот и летучих компонентов [162], ацеталей [163], ряда металлов [164], метаболомического профиля вин [165]. Для установления аутентичности предложен мультидисциплинарный подход: ПЦР реального времени и отношение изотопов $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ для вина и места возделывания винограда [151].

Виноделие стран СНГ базируется на более полном использовании всех фракций сусла в производстве винопродукции [166], при котором прессые фракции идут на получение ординарных крепких вин, чем радикальным образом отличается от виноделия других стран. Работами российских ученых показано, что для улучшения органолептических качеств отечественных вин типа портвейна и мадеры целесообразно применение в купажах виноматериалов головных фракций коньячных спиртов или спирта-сырца виноградного. В то же время, согласно исследованиям Р.Г. Тимофеева, винные дистилляты содержат нежелательные примеси – кротоновый и масляный альдегиды, диацетил, азотистые вещества, карбоновые кислоты [166, 167]. Согласно [168] дегустационная оценка спирта-сырца при содержании высших спиртов – 1800 мг/дм³ б.с. равна 7,4 балла; при 1700 мг/дм³ б.с. – 6,8; при 2000 мг/дм³ б.с. – 6,6; при содержании сложных эфиров 1000–1100 мг/дм³ б.с. составляла 7,4 балла; при 600 мг/дм³ б.с. – 7,0 балла и быстро уменьшалась при содержании эфиров более 1300 мг/дм³ б.с.

1.3 Контроль качества и анализ вин и виноматериалов

Сложность анализа виноградных вин обусловлена многими факторами – агротехникой, почвой, сортом винограда, технологией переработки и составами применяемых вспомогательных материалов [169, 170]. В сельскохозяйственном обороте в виноградарстве находятся более 4000 сортов винограда, разрешенных для промышленного виноделия, которые, в сочетании с технологическими аспектами их переработки, дают довольно широкий спектр содержаний основных компонентов продукции – более 1000 веществ с концентрациями от г/дм³ до нг/дм³ [171, 172]. Применение инновационных технологий – крио-, микроволновой, ультразвуковой, объемно-ротаторной мацерации характеризует вино специфическими летучими (терпены, эфиры, спирты, жирные кислоты) и полифенольными соединениями (антоцианы, флавоны, флавонолы, стильбены) [173], оказывает влияние на качество использования электромагнитных полей низких частот [174]. Ввиду этого весьма проблематичным становится возможность создания унифицированной методической базы по анализу виноматериалов, что значительно усложняет процедуру оценки их качества.

Аналитический контроль качества виноградного вина обеспечивается на сегодняшний день официальными нормативными документами Российской Федерации, которые частично гармонизированы с директивами международной организации виноградарства и виноделия МОВВ – (OIV) [13]. Эти документы регламентируют различные приемы, методические подходы к подготовке и анализу испытуемых образцов. Процедура анализа вин, согласно этим нормативным документам, предусматривает использование различных вариантов подготовки проб (прямая дистилляция, дистилляция с водяным паром, различные варианты экстракции и озоления, микроволновая пробоподготовка и др.) и детектирование различными методами анализа (химические, визуальные,

органолептические, ферментативные, изотопные и др. современные методы аналитической химии) [14].

При проведении анализа виноматериалов для практических и научных целей наиболее часто используют методы хроматографии, которые позволяют определять широкий круг основных органических и неорганических компонентов, а также следовые концентрации примесей [175–180]. Для анализа сложных смесей органических веществ и продуктов биотехнологии широкое распространение имеют методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и высокоэффективного капиллярного электрофореза (КЭ) [181–183].

Определить рамочные границы содержания компонентов в винах для установления их качества весьма трудно. Даже в виноматериалах, полученных из одного и того же сорта винограда, но различного территориального происхождения, сказываются инсоляция, почвенные условия, влагообеспечение, при этом содержания в них одних и тех же компонентов сильно разнятся. Ввиду этого весьма проблематичной становится возможность создания унифицированной методической базы по анализу виноматериалов, что значительно усложняет процедуру оценки их качества.

С другой стороны, в этом направлении внушает определенный оптимизм быстрое развитие современной инструментальной базы, а также методического и математического (программного) обеспечения, которые позволяют повысить точность, экспрессность, надежность работы аппаратуры и расширить спектр изучаемых параметров при реальной или относительной доступности измерений, возрастут возможности автоматизации процедур анализа и обработки получаемых величин современными методами математической статистики. Достижимая информативность и универсальность современных хроматографических методов и их гибридных аппаратурных решений привели к тому, что они чаще всех используются при оценке качества виноградного (плодового, ягодного) вина, вплоть до установления его подлинности и происхождения.

1.4 Хроматографические методы в анализе и идентификации виноградных вин

1.5 Газохроматографические методы

Методы газовой хроматографии (ГХ) обеспечивают разделение и определение относительно летучих компонентов в различных алкогольных напитках. Наиболее проблематично их использование для определения нелетучих компонентов виноградных вин, но и они могут быть проанализированы методами ГХ или газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) при условии их предварительной дериватизации или предварительным осуществлением их твердофазовой микроэкстракции с последующим детектированием [184]. С другой стороны, дериватизация аналитов, даже одностадийная, повышает величину общей погрешности анализа.

Информативность результатов газохроматографических исследований виноматериалов расширяется при их комбинировании с другими методами физико-химического анализа. Весьма интересным представляется исследование, в котором за счет сочетания возможностей хроматографических методов с сенсорным анализом устанавливали ароматический профиль сладкого красного вина [185].

При анализе вин методами ГХ или ВЭЖХ возможно использовать прямое дозирование пробы [186], однако, для обеспечения стабильности и работоспособности хроматографов желательно проведение предварительной обработки анализируемых образцов сорбционными материалами (уголь, силикагели и полимеры) или применение методов твердофазной экстракции [187]. Так, для изучения активных ароматических компонентов вина Шираз применено сочетание твердофазовой микроэкстракции с ГХ-офлактометрией

(органолептикой) и криогенной ловушкой [188, 189]. В работе [190] приводится подробное обсуждение приемов и особенностей твердофазовой микроэкстракции аналита при исследовании различных матриц, позволяющих детектировать компоненты на уровне 12 мкг/кг, а пестициды – на уровне 0,2 мкг/кг.

Сложность аналитических работ и выбора параметров натуральности виноградного вина обусловлена присутствием, помимо естественных компонентов, различных нетипичных (привнесенных) веществ органического и неорганического происхождения. К этим группам относят пестициды, минеральные компоненты бентонитового происхождения, парафины, стеарины, а при использовании машинной уборки винограда – остатки углеводородного топлива (на уровне нескольких или долей мг на литр вина), способные изменять ароматические и вкусовые характеристики натурального виноградного вина [191 – 193]. Традиционно для надежного определения пестицидов более востребованы методики, основанные на применении ГХ с детектором электронного захвата, обеспечивающим необходимую селективность (отсутствие реакции на углеводороды и большинство органических веществ), чувствительность (не менее 0,01 мг/дм³). Наряду с этим известен целый ряд методик, в которых используется экстракционное концентрирование аналитов с последующим ВЭЖХ и ГХ-МС-детектированием, обеспечивающих воспроизводимость результатов анализа и низкие пределы обнаружения (на уровне менее 0,01 мг/дм³) [194].

Авторами разработана экспресс-методика ГХ-МС определения глицерина и бутиленгликолей (мезо-форма и рацемат) в отечественных и зарубежных виноградных винах без предварительной экстракции. ГХ анализ применен для определения глицерина с пределом обнаружения 1 г/дм³ более сложных объектов – виноградного сусла, сока, концентратов [195].

Перспективность применения многомерной ГХ для изучения процесса молочнокислого брожения вина, количественного определения молочной кислоты показана в работе [196]. Методами ГХ-ДИП, ГХ-МС установлены разные скорости деградации сложных эфиров, формирующих аромат вина

из сортов винограда Рислинг и Каберне-Фран, наблюдаемые в течение 1,5 лет в процессе бутылочной выдержки [197].

Методы ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД) и масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией, а также ГХ-МС в сочетании с технологией твердофазной микроэкстракции применены для идентификации и выделения культур дрожжей. Порог обнаружения по выбранным характеристическим веществам составил менее $0,1 \text{ мг/дм}^3$ [198]. Сочетание методов ТФЭ и последующего анализа ГХ и ГХ-МС позволило провести исследование, посвященное идентификации летучих компонентов вина, при этом достигались пределы обнаружения определяемых компонентов на уровне $0,01 \text{ мг/дм}^3$ [199].

Процедура экстракции летучих компонентов белых и красных вин путем обогащения спиртового слоя летучими соединениями за счет добавки безводного сульфата магния с последующим газохроматографическим анализом была разработана и опробована авторами [200]. Результаты исследования показали хорошую сопоставимость с данными других методов и его надежность, отмечен положительный эффект в качестве анализа при построении градуировочных кривых с учетом матрицы пробы. Для достижения возможности определения изомеров туйона в алкогольных напитках, содержащих экстракты полыни, использовали ТФЭ с последующим газохроматографическим анализом. В оптимизированных условиях экстракционное извлечение аналита превышало 98%, предел обнаружения компонента $0,03 \text{ мг/дм}^3$, а среднеквадратичное отклонение составило менее 1,8% [201]. Авторы [202] провели сопоставительные определения концентрации этанола методами ГХ и с использованием мембранного биосенсора, установлено хорошее согласование результатов, что позволило его рекомендовать к определению содержания спирта в напитках.

Изучение состава летучих микропримесей на уровне $0,01 \text{ мг/дм}^3$ в ректифицированных спиртах методом ГХ-МС позволило по наличию ряда компонентов установить природу используемого сырья – зерно, виноград, свекла,

корнеплоды и т.д. [203]. Для установления подлинности спиртных напитков обоснована возможность применения методов хроматографии и спектрометрии [204], при этом повышение точностных характеристик методик хроматографического определения компонентного состава вина (погрешность менее 10 % при концентрациях компонентов на уровне 1 мг/дм³) достигали с использованием методов математического моделирования, которые позволили также минимизировать процедуры приготовления градуировочных растворов с использованием этанола в качестве внутреннего стандарта [205]. Разработан и предложен к применению метод ГХ-ДИП определения основных летучих компонентов вина – этанола, уксусной и пропионовой кислот, основанный на использовании насадочной колонки и техники прямого дозирования пробы [206].

Автоматизированная техника экстракции в трубке была разработана для ГХ определения летучих компонентов вин в различных матрицах на уровне 0,1 мг/дм³ [207]. Для ГХ-МС определения альдегидов в дистиллятах виноградного сока, определяющих их качество, предложена методика, включающая разбавление пробы, дериватизацию 2,3,4,5,6-пентафлуоробензилгидроксил-амином с последующей микроэкстракцией и детектированием, при этом достигаются пределы обнаружения аналитов ниже 0,01 мг/дм³ [208].

Широко востребована методика с использованием времяпролетной ГХ-МС, которая позволяет регистрировать 300–400 веществ с пределами их обнаружения до 0,001 мг/дм³ и позволяет получить профили паровой фазы летучих компонентов виноградного вина [209].

1.6 Высокоэффективная жидкостная хроматография

В аналитической практике метод ВЭЖХ имеет широкое применение благодаря его надежности при выполнении количественных измерений макро и микрокомпонентов воды, экстрактов минерального и органического

происхождения, различных типов вин, компонентов окружающей среды и т.д. Учитывая эти возможности, директивы МОВВ рекомендуют ВЭЖХ для определения карбоновых кислот вина, красителей, углеводов, аминокислот, консервантов [14]. Прямое дозирование вина в прибор при определении карбоновых кислот упрощает процедуру, но, с другой стороны, негативно влияет на работоспособность хроматографической колонки, кроме того используются подвижные фазы, содержащие метанол, часто применяют физиологически токсичные дериватизирующие агенты, например, нингидрин, фенилцианаты и т.д. Все это требует определенных условий хранения реактивов, специальных процедур утилизации, а стадии подготовки проб повышают суммарную погрешность измерений. Однако широкий спектр определяемых компонентов, высокая разрешающая способность, уровень автоматизации и информативность анализа метода ВЭЖХ привлекают внимание исследователей [210].

Используя метод ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения, авторы [211] провели исследования по выявлению характеристических особенностей компонентного состава вина. Полученные ими данные применены для создания и обработки полученного профиля вина с использованием мультивариантного статистического анализа. Предположено, что выявленные различия по качественному и количественному составу компонентов могут позволить различать образцы, произведенные в различных географических регионах виноделия.

Сочетание методов ион-парной хроматографии (со спектрофотометрическим и кондуктометрическим детектированием) и обращенно-фазовой ВЭЖХ позволило определить биогенные амины прямым дозированием или после их дериватизации с фенил-изотиоцианатом с пределом их обнаружения $0,1 \text{ мг/дм}^3$ [212]. С использованием такого подхода авторы [213] провели ВЭЖХ-определения биогенных аминов в чилийских молодых сортовых винах, содержания которых колеблются в интервале от 18,12 до 39,84 мг/дм^3 .

Авторами [214] была оптимизирована ВЭЖХ процедура определения биогенных аминов – гистамина, тирамина, путресцина, кадаверина и др., обеспечившая предел их обнаружения 0,1 мг/дм³.

Весьма интересными являются исследования авторов [215] с привлечением метода ВЭЖХ с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием с использованием электрораспылительной ионизации, в которых установлены фенольные профили экстрактов кожицы сортов винограда Sercial и Tinta Negra рода *Vitis vinifera* и наличие в них гидроксibenзойных, гидроксикоричных кислот, флавононов, флавонолов, стильбенов и антоцианинов.

Метод ВЭЖХ с кондуктометрическим детектированием был использован для установления общего антиоксидантного потенциала чистых веществ и сложных биологических смесей. Наличие и концентрация гидроксильных радикалов в этих системах устанавливали по продуктам реакций гидроксibenзойной или терефталевой кислот и изменению их концентраций [216]. Метод ВЭЖХ с флуорометрическим детектированием применили для аналогичной цели и определения низкомолекулярных аминов в экстрактах травы, пищевых, алкогольных и безалкогольных продуктах, предел их обнаружения составил 0,01 мг/дм³ [217]. Для определения маннопротеинов в винах различных типов также использовали метод ВЭЖХ, при этом на стадии подготовки проб применили эксклюзионную хроматографию, кислотный гидролиз, а на конечном этапе – ТФЭ [218].

ВЭЖХ анализ используется для определения большого перечня фенольных веществ, характерных для пищевых продуктов – бензоатов, кумаринов, стильбенов, флавоноидов с пределами обнаружения ниже 0,1 мг/дм³. В исследовании [219] обращенно-фазовая ВЭЖХ применена для разработки методики определения 9 органических кислот виноградного вина – винной, яблочной, фумаровой, лимонной, молочной, янтарной и др. со стандартной ошибкой метода менее 5% и пределом их обнаружения 2–5 мг/дм³.

Применение ВЭЖХ-ДМД позволило установить концентрации антоцианов (мальвидина, пеонидина, петунидина, дельфинидина, цианидина) и флавонолов (кверцетина, мирицетина, кампферола, ларицитрина, сиренгитина) в ягодах винограда *Vitis vinifera* [220]. Количественное определение катехина и одной из наиболее важных фенольных кислот (гидроксикоричной) в соке ягод винограда оказалось возможным и эффективным благодаря применению ВЭЖХ, предел обнаружения этих веществ составил менее $0,1 \text{ мкг/дм}^3$ [221].

Метод ВЭЖХ позволил детально изучить условия, влияющие на содержание антоцианов в кожице ягод [222]. Авторами работы установлено, что антоциановый профиль кожицы зависит от внешних условий, таких как вызревание, кинетика экстракции [223]. Сочетание методов ВЭЖХ и спектроскопии позволило исследовать процессы сопигментации (усиление окраски) и антисопигментации экстрактов винограда [224]. Эффект сопигментации характерен для многих компонентов вина, приводит к многочисленным оттенкам и выполняет модифицирование способов окраски вина.

Содержание Охратоксина А в продуктах спиртового брожения представляет потенциальную опасность для организма человека и может приводить к почечной недостаточности. Исследование процесса ферментации с помощью ВЭЖХ-ФД позволило установить, что во время спиртового брожения протекает частичная детоксикация Охратоксина А за счет его сорбции на кожице винограда и минеральных сорбентах [225].

ВЭЖХ определения органических кислот, углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках имеют существенные преимущества перед другими методами за счет высокой чувствительности, воспроизводимости и стабильности получаемых результатов [118].

Важным аспектом в технологии изготовления вин является необходимость контроля содержания веществ, способных выделяться при контакте натуральной или синтетической пробки с вином, т.к. укупорочные и упаковочные материалы

часто являются причиной дефектов вкуса и аромата на уровне концентраций менее $0,1 \text{ мг/дм}^3$, что требует применения высокочувствительных, эффективных аналитических решений подготовки пробы – экстракцией ТФЭ или жидкостной экстракцией с подходящим для этих целей растворителем [226].

Сочетание возможностей ГХ и ВЭЖХ (изучение летучих и нелетучих компонентов) позволило оценить авторам [227] эффективность культур дрожжей для процесса брожения, по результатам хроматографического анализа даваемого ими ароматического профиля были установлены принципиальные различия компонентного состава, продуцируемого этими культурами.

1.7 Капиллярный электрофорез

При решении многих аналитических проблем по изучению составов и свойств вин как рутинного, так и исследовательского характера, наряду с признанными хроматографическими методами анализа, достаточно успешно зарекомендовал себя метод КЭ, как надежный, экономичный и относительно несложный [228, 229]. Возможности КЭ привлекают внимание многих разработчиков и практиков для создания методик испытания и анализа вин, что подтверждается разработкой и внедрением целого ряда нормативных документов в последние годы. Например, ГОСТ Р 52841-2007 «Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза» предусматривает контроль содержания винной, яблочной, янтарной, лимонной, молочной кислот в винодельческой продукции на приборе, оснащенном кварцевым капилляром эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром (в.д.) $75 \cdot 10^{-6}$ м и отрицательном напряжении 25 кВ с применением фотометрического детектора. Подготовка пробы при этом минимальная и заключается в разбавлении образца дистиллированной водой, диапазон измеряемых концентраций аналита $1\text{--}50 \text{ мг/дм}^3$, границы относительной погрешности – 18% [119].

ГОСТ 31765-2012 «Вина и виноматериалы. Определение синтетических красителей методом капиллярного электрофореза» регламентирует процедуру анализа на приборе, оснащенном капилляром эффективной длиной 0,5 м, в.д. $75 \cdot 10^{-6}$ м и отрицательном напряжении 25 кВ, границы относительной погрешности не превышают 18%, диапазон измеряемых концентраций – 2–200 мг/дм³ [130]. Известен прием выявления синтетических красителей химическими методами [230]. ГОСТ Р 53193-2008 «Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза» предусматривает разделение аналитов разбавленной в 2–5 раз пробы и выполнение анализа напитков с использованием спектрофотометрического детектора. Доверительные границы допускаемой относительной погрешности этой методики находятся от 12 до 28% [129]. Методика ГОСТ Р 53971-2010 «Продукция винодельческая. Определение массовой концентрации пестицидов группы триазолов методом капиллярного электрофореза в сочетании с твердофазной экстракцией» предусматривает анализ при отрицательном напряжении 25 кВ, использовании спектрофотометрического детектора (200 нм) в течение 20 мин. При этом диапазон измеряемых концентраций составляет 0,01–10 мг/дм³, границы относительной погрешности 20% [231].

Для контроля показателей качества водочной продукции и воды разработан ГОСТ Р 52930-2008 «Водки, водки особые и вода для их приготовления. Определение массовой концентрации катионов, аминов, анионов неорганических и органических кислот методом капиллярного электрофореза». Разделение компонентов в этом случае проводят на приборе, оснащенном капилляром длиной не более 1,5 м, в.д. $50 \cdot 10^{-6}$ м и кондуктометрическим детектором. Диапазон измеряемых массовых концентраций компонентов составляет 0,5–20 мг/дм³ включительно, время анализа не превышает 20 мин [232].

В работе [233] приводится методика ВЭКЭ с применением наночастиц в качестве псевдостационарной фазы для одновременного (в течение пяти минут) определения пяти органических кислот в напитках и образцах сока из фруктов. Пределы определения лимонной, салициловой, бензойной, сорбиновой и аскорбиновой кислот данной методики составили 7,5; 0,15; 0,23; 0,33 и 10,0 мг/дм³ соответственно.

Химическое модифицирование внутренней поверхности капилляра позволило авторам [234] реализовать прямое определение аргинина, глицина, гистидина, аспарагина при использовании в составе ведущего электролита 10% метанола при рН 2,14. Применение в составе фосфатного ведущего электролита бэттациклодекстрина позволило выполнить прямое определение 11 аминокислот модельной смеси при спектрофотометрическом детектировании (214 нм) и эффективной длине капилляра 0,6 м, в.д. $75 \cdot 10^{-6}$ м [235]. Осуществлено разделение свободных генетически кодируемых аминокислот методом КЭ с прямым УФ-детектированием аналита при 200 нм, а для увеличения чувствительности определения аналитов до 1 мг/дм³ и уменьшения влияния помех в ходе анализа использована реакция с фенилтиокарбаматом [236]. Определение свободных аминокислот в соках, настоях, жидких концентратах, виноградных, плодовых винах после проведения реакции со специфическим реактивом (фенил-изотиоцианатом) позволило повысить предел их обнаружения до 1 мг/дм³ при линейности до 100 мг/дм³ и расширить круг определяемых аминокислот до 16 [237]. Методом КЭ реализовано одновременное определение глутамина, аргинина и органических кислот в пробах биологических объектов [238].

Авторами [239] предложена методика электрофоретического определения основных органических кислот в безалкогольных и алкогольных напитках с пределом обнаружения аналитов 1 мг/дм³. С использованием спектрофотометрического детектора (200 нм) разработана электрофоретическая методика определения никеля, цинка, меди, железа, свинца в соках и нектарах в

присутствии различных реагентов, образующих комплексные соединения с различной степенью стабильности, с пределом обнаружения аналитов $0,1 \text{ мкг/дм}^3$ [240]. С использованием фонового электролита, состоящего из 10 мМ/дм^3 1-метил-3-метилимидазола и уксусной кислоты при pH 5,0, показана возможность определения калия, натрия, лития, кальция, магния и бария в красных винах и жидкостях биологического происхождения [241]. Авторами [242] применен КЭ для определения содержания основных катионов в соках и нектарах с пределом их обнаружения $0,1 \text{ мкг/дм}^3$. Разработана весьма эффективная методика экспресс-определения протеинов в винах методом гель-электрофореза [243].

КЭ успешно применен авторами [244] при исследованиях жидких объектов для определения основных анионов с пределами их обнаружения менее $1,0 \text{ мкг/дм}^3$. Разделение смеси неорганических анионов выполнено КЭ с использованием кварцевого капилляра, внутреннюю поверхность которого модифицировали смесью дидодециламмоний бромид и цвиттер-иона.

В исследовании [245] показана возможность определения летучей кислотности и содержания свободного сернистого ангидрида в винах, предусматривающая предварительное выпаривание пробы, в качестве электролита использованы цетил-триметил-аммоний бромид и гидроокись натрия.

Оригинальной является электрофоретическая методика определения фенольных кислот в вине, которая легла в основу способа установления подлинности анализируемого объекта [246].

С применением метода зонного КЭ (305 нм) показана возможность определения гентизиловой, п-кумаровой, кофейной и галловой кислот в виноградных винах. Для разделения кислот использован 25 мМ/дм^3 водный раствор тетрабората натрия (pH 9,5), в некоторых комбинациях в состав ведущего электролита добавляли β -циклодекстрин. Для улучшения предела определения аналита до $0,5 \text{ мкг/дм}^3$ применили кварцевый капилляр в.д. $300 \cdot 10^{-6} \text{ м}$, а для идентификации вина предусмотрена ТФЭ с последующим анализом элюата и

предложено использовать трехмерные электрофореграммы образцов вина как метод отпечатка пальцев [247]. КЭ, благодаря своей универсальности, часто используют для интегральной оценки продукции – получения профилей выбранной категории компонентов (фенольные, витаминные, кислотные, комбинированные), аналогично известным ГХ или ГХ-МС методикам.

Путем сравнения характеристического электрофоретического профиля аналита с соответствующими профилями испытуемого объекта с «нормой» в режимах капиллярного зонного или мицеллярного электрофореза с УФ-детектированием проведена идентификация физиологических жидкостей, тканей, растительных и пищевых продуктов. Такой подход позволяет выявить патологии (биологические объекты) или факт фальсификации (продукты питания) [146]. В процессе проведения анализа происходит твердофазное или жидкофазное концентрирование аналитов, которое усиливается при использовании комплексообразующих агентов непосредственно в кварцевом капилляре в процессе электрофоретического разделения.

Для определения массовой концентрации углеводов, в том числе примесей в сахаре [248], растительных материалах [249], пищевых продуктах [250] и сахарных кислотах [251] использован метод КЭ с косвенным УФ-детектированием аналита. Данный прием позволил исследователям отказаться от процедуры дериватизации углеводов, необходимой в случае анализа пробы методом ГХ или ГХ-МС, и обеспечил предел обнаружения – 1–10 мг/дм³ в испытуемом образце [252]. Решение проблемы эффективного разделения и достижения низких пределов обнаружения углеводов авторы [253] осуществили путем применения ведущего электролита с высоким значением рН или их переводом в производные реагентами, молекулы которых содержат хромофорные хромогенные группы [254], обеспечением изменения электрофоретической подвижности молекул углеводов за счет получения комплексов с борат-ионом [255] ионами металлов [256], оптимизации состава

электролита [257]. Достаточно подробный и развернутый обзор по определению углеводов методом КЭ представлен в работе [258].

Исследования авторов [259] по применимости лигандообменного капиллярного электрофореза (254) для определения глюкозы, фруктозы, сахарозы в винах и соках в форме соответствующих комплексов с катионами двухвалентной меди привели к разработке методики, обеспечившей предел обнаружения изучаемых веществ на уровне 5–21 мг/дм³.

Можно заключить, что хроматографические методы, включая КЭ, широко применяют для установления состава, качественных и количественных характеристик, определения широкого круга основных органических и неорганических компонентов виноградного вина, а также следовых концентраций примесей. Быстрая эволюция современной хроматографической инструментальной базы, научно-методического обеспечения, методов математической статистики и программного обеспечения позволили повысить точность, надежность разрабатываемых методических решений при реальной или относительной доступности измерений. С другой стороны, следует отметить, что сложность объекта исследований – виноградных вин, обусловленная многими факторами, требует, в зависимости от поставленной задачи, привлечения от простого уровня аналитических приборов до сложных комбинированных хроматографических систем. Информативность и универсальность хроматографических методов и гибридных аппаратных решений позволили успешно их применить для оценки качества виноградного, плодового и ягодного вина, а также установления его происхождения. Наиболее сложные задачи установления и идентификации реперных компонентов, ответственных за достоинства или недостатки винопродукции, актуально решать с привлечением различных вариантов масс-спектрометрии, а технологический контроль непосредственно в условиях производства возможно осуществлять более доступными методами – КЭ, ГХ, ВЭЖХ.

Следует отметить, что методы КЭ, сверхкритической жидкостной хроматографии, ГХ-МС высокого разрешения имеют большие перспективы для развития аналитической химии вина, применения в повседневной производственной работе. Отдельно нужно подчеркнуть перспективность применения этих методов для установления характерных для вин биомаркеров, получения метаболического профиля вина и др.

1.8 Выводы к аналитическому обзору и постановка задач исследования

Методология контроля, используемая в аналитической химии вина, базирующаяся на идентификации вина по ограниченному числу феноменологически подобранных параметров (исходя из личного опыта или фантазии исследователя), весьма ограничена, так как в полной мере не отвечает современным методам контроля качества вин и виноматериалов. Для установления соответствия реализуемой винопродукции требуемому качеству используются комплекс или совокупность критериев, включающие контроль традиционных показателей и специальных (сахарозы, глюкозы, фруктозы, катионов металлов, анионов, глицерина, зольности, щелочности золы и др.) показателей. Данные критерии оценки качества не в полной мере востребованы и используются отечественными технологами. Сложность анализа виноградных вин обусловлена многими факторами – агротехникой, почвой, сортом винограда, необходимостью контроля применяемых технологий переработки и составов вспомогательных материалов. С другой стороны, разработка и обоснование методического подхода, установление критериев оценки подлинности и качества, а также комплекса аналитических методов контроля технологически важных показателей специальных вин и винных дистиллятов являются актуальной задачей. С помощью обоснованных критериев становится вполне реальной возможность установления качества и подлинности продукции, с другой стороны, требуется систематизация, модификация и

разработка новых решений существующих проблем. Возможно, следует использовать другую, формализованную методологию контроля, основанную, например, на распознавании вина как целого «образа» контролируемого вина на основе вычисленных признаков.

Целью настоящего диссертационного исследования являлась разработка научно обоснованной методологии контроля качества вин и установления их натуральности по химическому составу виноградных вин и винных дистиллятов.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- комплексный анализ винных дистиллятов и вина для установления их качественного и количественного компонентного состава;
- обоснование методов установления химического состава винного дистиллята и виноматериалов, исследование влияния их состава на физико-химические и органолептические характеристики виноградных вин;
- разработка комплекса современных аналитических методик оценки качества и подлинности (натуральности) виноградных вин, в том числе выработанных с применением винных дистиллятов;
- установление критериев и подходов для комплексной идентификации натуральности вина;
- выявление комплексных показателей качества исследуемых материалов, базирующееся на обобщении количественных характеристик единичных параметров вин и их органолептической оценке;
- установление «образа» вина, отображающего качественный и количественный состав ароматических и вкусовых компонентов вин;
- выявление критериев подлинности и региональной принадлежности вин на основе установления взаимосвязи между изучаемыми переменными с оценкой их вклада;
- разработка вероятностно-статистических моделей оценки качества вин методами многомерного анализа данных.

2 Экспериментальная часть и обсуждение результатов

2.1 Объекты и методы исследований

2.1.1 Оборудование

Для выполнения экспериментальных исследований использовали следующее оборудование:

1. Спектрофотометр UNICO 1201, (UNICO, Китай).
2. Спектрофотометр UNICO 2800, (UNICO, Китай).
3. Спектрофотометр СФ-46 (ЛОМО, Россия).
4. Фотозлектроколориметр КФК-2 (ЛОМО, Россия).
5. Система капиллярного электрофореза «Капель-103РТ» (НПФ «Люмэкс», Россия).
6. Система капиллярного электрофореза «Капель-104РТ» (НПФ «Люмэкс», Россия).
7. Система капиллярного электрофореза «Капель-105» (НПФ «Люмэкс», Россия).
8. Система капиллярного электрофореза Agilent Technology CE 3000 (НР, США).
9. Хроматограф газовый, масс-спектрометр HP-5890 (НР, США).
10. Хроматограф газовый Кристалл-2000М (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия).
11. Хроматограф газовый, масс-спектрометр Clarus 600 (Perkin-Elmer, США).
12. Спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Optima 2100DV (Perkin-Elmer, США).
13. Спектрометр атомно-абсорбционный КВАНТ-АФА, (ООО «Кортэк», Россия).
14. Центрифуга ОПН-8, (Россия), максимальная скорость вращения 8000 об^{-1} .

15. Центрифуга Eppendorf Minispin, (Германия), максимальная скорость вращения 13000 об⁻¹.

16. Центрифуга CV-1500, (Германия) максимальная скорость вращения 1500 об⁻¹.

17. Центрифуга Elmi, (Латвия), максимальная скорость вращения 9000 об⁻¹.

18. pH-метр pH-150M, (Россия).

19. Рефрактометр АББЕ, ИРФ-470 (Россия).

2.1.2 Реактивы и материалы

В работе использовали следующие реактивы: винную кислоту х.ч., 99% (Вектон); бензимидазол, 99% (Sigma); 18-краунэфир-6, 99% (Sigma); б-циклодекстрин, 99,4% (Fluka); H₃PO₄ х.ч., 99% (Вектон); HCl х.ч., 99% (Вектон); NaOH х.ч., 99% (Вектон); Na₂B₄O₇·10 H₂O х.ч., 99% (Вектон); H₃BO₃ х.ч., 99% (Вектон); NaH₂PO₄ х.ч., 99% (Вектон); Na₂HPO₄ х.ч., 99% (Вектон); KH₂PO₄ х.ч., 99% (Вектон); K₂HPO₄ х.ч., 99% (Вектон); глюкоза, 99% (Sigma); фруктоза, 99% (Sigma); сахароза, 99% (Sigma); едкий калий, 99% (Vecton); глицерин, 98% (Sigma); сорбат калия, 98% (Sigma); ЦТАБ, 99% (Sigma); ЦТА-ОН, 10%-ный водный раствор (Sigma); бихромат калия х.ч., 99 % (Диа М); гексаметилендиамин х.ч., 99% (Диа М); спирт этиловый ректифицированный, 96,6%; кислоты уксусная, 99%, пропионовая, 99%, масляная, 99% (Merk); изомасляная, 99%, валериановая, 99%, изовалериановая, 99% (Вектон); энантовая (гептановая), 99% (Aldrich); 2,3-бутандиол, control A (Serva); 1,2-пропиленгликоль, 99% (Sigma); диацетил, 98% (Merk), ацетонин, 98% (Merk), 2,3-пентадион, 97% (Aldrich); фурфурол, 99% (Sigma); лактат лития, 95% (Aldrich); уротропин, 99% (Диа М), сульфат натрия, 99% (Диа М), галловая кислота, 99% (Sigma), сиреневая кислота, 98% (Merk), миндальная кислота, 98% (Merk), изопропанол, 99,9 % х.ч. (Vecton), 1-пропанол, 99% (Vecton), изобутанол, 99% (Vecton), 1-бутанол, 99% (Вектон), изоамиловый спирт, 99% (Vecton); амиловый спирт, 99% (Vecton); 1-гексанол,

99% (Vecton); 1-гептанол, 99% (Merk); 2-бутанол, 98% (Merk); 2-фенилэтанол, 99% (Sigma); ионон, 99% (Sigma); тирозол, 98% (Merk); ацетальдегид, 98% (Merk); метилацетат, 98% (Merk); этилацетат, 98% (Merk); этилпропионат, 98% (Merk); этилвалериат, 98% (Merk); изоамилацетат, 98% (Merk); этилбутират, 98% (Merk); этилкаприлат, 98% (Merk); этилкапринат, 98% (Merk); этиллаурат, 98% (Merk).

Для приготовления растворов и калибровок использовали стандартные образцы растворов:

– калия, 1 мг/см³ МСО 0019:1998, аммония, 1 мг/см³ МСО 0017:1998, натрия, 1 мг/см³ МСО 0018:1998, магния, 1 мг/см³ МСО 0085:1999, кальция, 1 мг/см³ МСО 0020:1998;

– хлорид-иона, 1 мг/см³ ГСО 8747-2006, нитрит-иона, 1 мг/см³ ГСО 7792-2000, нитрат-иона, 1 мг/см³ ГСО 7793-2000, сульфат-иона, 1 мг/см³ ГСО 7683-99;

– аминокислот: треонин, 99% (Диа-М), пролин, 99% (Диа-М), аргинин, 99% (Sigma), тирозин, 99% (Sigma), бэта-фенилаланин, 99% (Sigma), триптофан, 99% (Sigma), ГСПС (градуировочная смесь поверочная спирта) концентрации 1; 5; 10 мг/дм³ в 96% этиловом спирте (ВНИИПБТ), ГСПВ (градуировочная смесь поверочная водки) концентрации 1; 5; 10 мг/дм³ в 40% этиловом спирте (ВНИИПБТ).

Ацетали этилового спирта и высших спиртов синтезировали реакцией с уксусным альдегидом по методике [260], очищали экстракцией, дистиллировали, качество полученного вещества контролировали на газовом хроматографе, ГХ-МС.

Растворы глицерина концентрацией 5, 10 и 20 г/дм³: вносили 0,5; 1,0; 2,0 г глицерина в мерную колбу объемом 100 см³, добавляли до метки воду и перемешивали.

Раствор сульфата натрия, 1%: 1,00 г сульфата натрия растворяли в 100 см³ воды.

Раствор бихромата калия концентрацией 0,296%: 0,296 г бихромата калия вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор гексаметилендиамина концентрацией 0,115% (10 мМ): 0,115 г гексаметилендиамина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор фосфорной кислоты концентрацией 0,3%: 0,30 г фосфорной кислоты вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор бензимидазола концентрацией 0,26%: 0,260 г бензимидазола вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор аргинина концентрацией 0,1%: 0,100 г аргинина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор пролина концентрацией 0,1%: 0,100 г пролина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор треонина концентрацией 0,1%: 0,100 г треонина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор тирозина концентрацией 0,1%: 0,100 г тирозина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор триптофана концентрацией 0,1%: 0,100 г триптофана вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор бэ́та-фенилаланина концентрацией 0,1%: 0,100 г бэ́та-фенилаланина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор борной кислоты концентрацией 0,6%: 0,600 г борной кислоты вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор дигидрофосфата калия концентрацией 0,275%: 0,275 г дигидрофосфата калия вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор тетрабората натрия десятиводного концентрацией 0,8%: 0,800 г тетрабората натрия десятиводного вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор гидроокиси калия 0,16%: 0,160 г гидроокиси калия вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор сорбата калия 0,4%: 0,400 г сорбата калия вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор дипиколиновой кислоты 0,11%: 0,110 г дипиколиновой кислоты вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор тетраметиленамина 1,01%: 1,01 г тетраметиленамина вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

Раствор этилендиуксусной кислоты 0,09%: 0,09 г этилендиуксусной кислоты вносили в мерную колбу объемом 100 см³, растворяли в дистиллированной воде и доводили до метки.

2.1.3 Объекты исследования

Объектами исследования были образцы натуральных сухих красных и белых виноградных вин российского производства, полученные по традиционным технологиям из европейских (Каберне, Мерло, Алиготе, Рислинг, Саперави и т.д.) и гибридных сортов винограда (Бианка, Виорика, Молдова, Первенец Магарача и т.д.).

Промышленные образцы красных и белых виноградных вин, произведенные в ЗАО АФ «Мысхако», ООО «Фанагория», «Кубаньвино», ООО АФ «Саук-Дере», «ЮВК», «Вилла Виктория», «Шато Тамань», «Шато ля Гранд Восток», ТОО «Джемте», ТОО «Витязево», на Ставропольском ВКЗ (Ставропольский край), АОЗТ «Виноград» (Кабардино-Балкария) (содержание спирта 9–13% объемных, титруемая кислотность – 4–7 г/дм³).

Изучены винные дистилляты – переработанный спирт-сырец вышеперечисленных предприятий, виноматериалы из самотека и прессовых фракций красных и белых сортов винограда, в технологии которых использовали винные дистилляты, выработанные в производственных условиях в 1997–2003 гг., 2007–2013 гг., а также купажные, изготовленные в экспериментальных условиях виноградные вина и фальсификаты.

2.1.4 Методы исследований

Массовые концентрации летучих компонентов в виноградных дистиллятах и винах определяли методом капиллярной газовой хроматографии (хроматографы – Кристалл-2000М, НР-5890, PE Clarus-600, пламенно-ионизационный детектор, колонка НР-FFAP и другие на основе ПЭГ, длиной 50 м

– 0,32 мм). Экстрактивные компоненты изучали с помощью систем КЭ серии Капель, Agilent Technology CE 3000, подтверждали результаты ФЭК, СФ.

Определение основных показателей химического состава спирта-сырца – объемной доли этилового спирта, массовой концентрации метанола, альдегидов, эфиров и высших спиртов, фурфурола – проводили по ГОСТ 5964-93 «Спирт этиловый. Правила приемки и методы испытаний» [261].

Химический состав виноматериалов устанавливали по действующим ГОСТ и методам теххимического контроля [262–265].

Для обработки спиртов-сырцов с целью регулирования их химического состава использованы сорбенты различной природы, отличающиеся структурой, особенностями химического строения и механизмом действия активированный уголь – АУ, природные цеолиты, зола.

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Хроматэк-Аналитик (ООО «Хроматэк»), «Мультихром для Windows, версия 1.5» (ООО «Амперсенд», г. Москва), Chemstation (HP, USA), TurboMass (PE, USA).

Статистическое моделирование взаимосвязи дегустационной оценки вин и содержания в них вышеперечисленных летучих компонентов, учет степени влияния на аромат и аналитическую оценку тех или иных компонентов виноградного вина в заданных границах соответствия качества осуществляли в среде пакета STATISTICA 10 [266].

Органолептическую оценку вина определяли в ходе рабочих дегустаций по 100 бальной системе [96 – 97].

2.2 Разработка современных методик анализа вина.

Обоснование методов анализа

В странах ЕЭС действует нормативно-техническая и информационно-документальная база (Постановление №823/87), направленная на борьбу с некачественной и фальсифицированной продукцией. Для установления соответствия реализуемой винопродукции требуемому качеству используется комплекс или совокупность показателей, включающий определение относительной плотности, общего спирта, фактического спирта, сахара в исходном сусле, общего экстракта, приведенного экстракта, остаточного экстракта, редуцирующих сахаров, сахаров после инверсии, сахарозы, глюкозы, фруктозы, рН, общих титруемых кислот, винной, молочной, лимонной, глюконовой и яблочной кислот, общей и свободной сернистой кислоты, летучих кислот, катионов металлов – натрия, калия, кальция, магния, железа, анионов – хлоридов, фосфатов, сульфатов, а также глицерина, электропроводность продукта, зольность, щелочность золы. Кроме представленных показателей, производитель вина обязан указывать место произрастания винограда, результаты органолептической оценки, а при необходимости – произвести дополнительные анализы, например, определить массовую концентрацию углекислоты (для вин, насыщенных диоксидом углерода) или количество и качественный состав летучих компонентов. Сопоставляя представленный перечень с показателями, анализируемыми в отечественных аккредитованных лабораториях, можно отметить его многогранность и широту. Путем реализации перечисленных показателей качества значительно увеличивается вероятность установления подлинности, низкого качества натуральной продукции или факта ее фальсификации. Однако выполнение такой аналитической работы возможно только в специализированных лабораториях, имеющих соответствующий

уровень оборудования и квалифицированный персонал. Поэтому проблема разработки экспресс-методов оценки подлинности вин остается актуальной.

Для получения информации о составе виноградного дистиллята и вина, в том числе и для установления фальсификаций, достаточно широко применяют такие методы анализа, как газовая и жидкостная хроматография. Эти методы позволяют получать как полный профиль летучих или нелетучих компонентов вина, так и количественно определять содержание индивидуальных веществ.

В РФ для контроля качества виноградного вина используется целый ряд НД, в которых предусматривается применение химических и инструментальных методов анализа (таблица 1).

Таблица 1 – Методы анализа, применяемые в НД России для контроля качества виноградного вина

Нормативный документ	Метод контроля
1	2
ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза. ГОСТ Р 53154-2008 Вина и виноматериалы. Определение синтетических красителей методом капиллярного электрофореза. ГОСТ Р 53193-2008 Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза. ГОСТ Р 53971-2010 Продукция винодельческая. Определение массовой концентрации пестицидов группы триазолов методом капиллярного электрофореза в сочетании с твердофазной экстракцией.	КЭ
ГОСТ 32073-2013 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в алкогольной продукции	ТСХ
ГОСТ Р 52813-2007 Продукция винодельческая. Методы органолептического анализа. ГОСТ 32051-2013 Продукция винодельческая. Методы органолептического анализа	Сенсорный

1	2
<p>ГОСТ Р 53954-2010 Продукция винодельческая. Идентификация. Метод определения массовой концентрации золы и щелочности золы</p> <p>ГОСТ 32000-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации приведенного экстракта.</p> <p>ГОСТ 32001-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации летучих кислот.</p> <p>ГОСТ 32095-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта ГОСТ 32081-2012.</p> <p>ГОСТ 32115-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации свободного и общего диоксида серы.</p> <p>ГОСТ 32981-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения относительной плотности.</p> <p>ГОСТ 32114-2013 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации титруемых кислот.</p>	<p>Титрование, гравиметрия, объемный</p>
<p>ГОСТ 51822-2001 Вина и виноматериалы. Газохроматографический метод определения объемной доли этилового спирта, массовой концентрации уксусной и пропионовой кислот</p>	<p>ГХ</p>
<p>ГОСТ 52391-2005 Винодельческая продукция. Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты.</p> <p>ГОСТ 32113-2013 Продукция винодельческая. Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты.</p>	<p>Ферментативный</p>
<p>ГОСТ 26929-94</p> <p>ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов</p>	<p>Атомная абсорбция</p>
<p>ГОСТ 32710-2014 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Идентификация. Метод определения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ спиртов и сахаров в винах и суслах</p>	<p>Масс-спектрометрия</p>

Проведенный согласно таблице 1 анализ состояния нормативного обеспечения контроля качества винодельческой продукции свидетельствует о преобладании химических методов анализа, которые оперируют интегральными характеристиками: летучая кислотность, титруемая кислотность, общий сернистый ангидрид, общий экстракт и т.д.

Широко практикуется и развивается квалифицированный органолептический анализ, наблюдается постепенное внедрение информативных дифференциальных, документальных методов анализа в виноделие – КЭ, ИВА, ГХ, ГХ-МС.

Следует отметить, что для винодельческой продукции существует объективная возможность определения единичного показателя качества двумя способами, что, безусловно, способствует повышению надежности конкретного измерения. В сложных условиях полноценного обеспечения перерабатывающих предприятий РФ исходным сырьем и материалами определено предусматривается расширение перечня традиционно контролируемых параметров, поиск критериев натуральности и внедрение автоматизированных устройств контроля качества в практику анализа. Имеются определенные предпосылки для осуществления комплексного химического анализа виноградных дистиллятов и вина с целью более эффективного установления их качества или региональной принадлежности, в том числе требованиям международных стандартов, вплоть до получения ректифицированных виноградных спиртов.

В ЕС перечень применяемых методов анализа для контроля виноградного вина более широкий, предусматривает использование ВЭЖХ, ГХ, КЭ, спектрометрии. Согласно директиве ЕС №1234/2007 методы OIV [267] являются официальными методами анализа винодельческой продукции в странах ЕС (таблица 2).

Таблица 2 – Нормативные документы (Méthode OIV-MA-AS314-03 : R2015 [268]), рекомендованные OIV для контроля качества виноградного вина, 2015 г.

Номер директивы	Наименование НД	Метод контроля
1	2	3
Méthode OIV-MA-AS314-03 Méthode Type II (Résolution Oeno 7/2005, Révisé par OIV-OENO 512- 2014)	Détermination du rapport isotopique 13C/12C du CO ₂ dans les vins mousseux Méthode employant la spectrométrie de masse de rapport isotopique (SMRI)	Изотопный анализ
OIV-MA AS 312-01A R2009	Reference method for the determination of alcoholic strength by volume of spirit drinks of viti- vicultural origin	Химический
OIV-MA AS 313 02 R2009	Determination of volatile acids after distillation by titration	Химический
OIV-MA AS 313 01 R2009	Determination of total acids by titration	Химический
OIV-MA AS 311 01A R2009	Determination of real alcohol content after distillation by frequency oscillator and total alcohol by calculation from measured values	Химический
OIV-MA AS 322 08 R2009	Zinc	Атомно- абсорбционная спектрофотометрия
Res OIV 63-2000	Vinaigres de vin détermination de la teneur en sulfates	Гравиметрия
POP_2003	Reference method for the determination of sulfates	Ионная ВЭЖХ
OIV-MA AS 321 03A R2009	Sodium	Атомно- абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 311 03 R2003	Dosage des sucres par CLHP dans les vins	ВЭЖХ
Res OIV 64-2000	Vinaigres de vin détermination de la teneur en cuivre	Атомно- абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 322 02A R2009	Potassium	Атомно- абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 313-19	Determination of the principal organic acids of wines and sulphates by capillary electrophoresis	КЭ
OIV-MA AS 313-18	Dosage de l'acide sorbique dans les vins par électrophorèse capillaire	КЭ

1	2	3
Res SCMA 385-2012	Method for the determination of the lisozyma by electroforesis capillar of high resolution	КЭ
OIV-MA AS 313 15 R2011	pH	Химический
OIV-MA AS 313 21 R2009	Détermination de la présence d'acide metatartrique	ВЭЖХ
OIV-MA AS 313 17 R2009	Dosage de l'acide shikimique dans le vin par chromatographie liquide haute performance et détection UV	ВЭЖХ
OIV-MA AS 313 20 R2009	Dosage des acides sorbique, benzoïque, salicylique dans les vins par chromatographie liquide à haute performance	ВЭЖХ
OIV-MA AS 313 04 R2009	Acides organiques	ВЭЖХ
OIV-MA AS 314 01 R2006	Carbone Dioxide	Потенциометрия
OIV-MA AS 315 11 R2007	Determination of nine major anthocyanins in red and rosé wines using HPLC (Oeno 22/2003, Oeno 12/2007)	ВЭЖХ
OIV-MA AS 323 04A R2009	Sulphur dioxide (titrimetry) (A 17 revised by 377/2009)	Химический
OIV-MA AS 322 04 R2009	Calcium (A 26, revised by 377/2009)	Атомно-абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 315 04 R2009	Ethyl carbamate (Oeno 8/98, revised by 377/2009)	ГХ
OIV-MA F 1-09 R2012	Specific methods for the analysis of grape sugar: total cations (Oeno 419B/2012)	Титрование
OIV-MA F 1-01 R2011	Conductivity (Oeno 419A-2011)	Кондуктометрия
OIV-MA AS 2-07B R2009	Chromatic Characteristics	СФ
OIV-MA AS 315 03 R2009	Malvidin diglucoside	Флюоресценция
UNIEN 12396-2:1999	Determination of dithiocarbamate and thiuram disulfide residues	ГХ
OIV-MA AS 2-03B R2009	Total dry matter	Гравиметрия
OIV-MA AS 322-05A R2009	Iron (AAS) (A 9, revised by 377/2009)	СФ
OIV-MA F 1-02 R2011	Hydroxymethylfurfural (HMF) by High-Performance Liquid Chromatography (Oeno 419A-2011)	ГХ
OIV-MA AS 2-10 R2009	Folin-Ciocalteu Index	Химический, СФ
DM 12/03/1916SO GU	Lithium	Атомно-абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 322-07 R2009	Magnesium	Атомно-абсорбционная спектрофотометрия
OIV-MA AS 312-03A R2009	Methanol	ГХ
OIV-MA AS 315-10 R2009	Dosage de l'ochratoxine A dans le vin après passage sur colonne d'immunoaffinité et CLHP avec détection fluorimétrique	ВЭЖХ

Стоит отметить следующие достоинства и недостатки методов анализа, применяемых в отечественной и мировой практике для контроля качества винодельческой продукции:

Один из ключевых видов анализа – сенсорный – обладает высокой чувствительностью, избирательностью, характеризуется незначительными затратами на организацию испытаний, но не пригоден для количественного анализа, не исключает субъективный подход – качество анализа зависит от индивидуальных способностей дегустатора, степени подготовки, настроения и т.д.

Химические методы анализа наиболее распространены, характеризуются общей доступностью, наглядностью, надежностью при измерении единичного параметра, однако не всегда соблюдается экологически чистая процедура анализа – используются растворители, агрессивные и токсичные реактивы, а в целом этой группе методов свойственна низкая информативность и избирательность, невозможность документального подтверждения.

Ферментативные методы широко распространены для контроля количественных характеристик компонентов (как правило единичного показателя) в различных объектах биологического происхождения, часто востребованы, так как им присуща доступность, относительно низкие затраты на организацию испытаний. Но в тоже время отмечается низкая надежность, вызванная не самими недостатками методов, а высокими требованиями к хранению и использованию наборов реактивов, которые в нашей стране исключительно импортного производства – во время поставки, прохождения таможенных процедур трудно выдержать предписываемые изготовителем правила транспортировки. Несомненно, организация производства реактивов и наборов на территории РФ значительно упростило бы эту проблему, однако путей решения не наблюдается.

Инверсионная вольтамперометрия – прогрессивный бюджетный метод анализа, которому свойственны низкие эксплуатационные затраты, вполне

определенная надежность при измерении узкого круга единичных параметров ионного характера винодельческой продукции, но предъявляются высокие требования к подготовке пробы.

Атомно-абсорбционная спектроскопия в любом исполнении – надежный способ анализа, но пригоден только для решения определенного круга задач – фактически измерения единичного параметра, однако данному методу свойственны высокие затраты, сложность эксплуатации аппаратуры, повышенные требования к подготовке проб биологического происхождения.

Капиллярный электрофорез – достаточно универсальный, прогрессивный метод, но пригоден только для установления концентраций нелетучих компонентов в основном ионного характера, который не рекомендуется применять для анализа реакционных веществ, способных разлагаться под действием электрического тока, или образующих газы и осадки. Метод ограниченно пригоден для определения концентраций электро-нейтральных веществ, а также слабо растворимых в электролитах на водной основе.

Газовая хроматография и ее варианты, особенно капиллярная ГХ (ГХ-МС) – один из самых универсальных методов исследования летучих веществ различных химических классов, пригодный вплоть до изотопного анализа компонента; для нелетучих или труднолетучих веществ практикуются довольно развитые процедуры дериватизации, которые еще больше расширяют аналитические возможности метода, но в целом ухудшают количественные характеристики измерений. Как правило, ГХ не пригоден для определения ионных веществ. В отношении ГХ-МС особо следует отметить высокую информативность, возможность идентификации компонентов, как недостатки – очень высокие затраты на содержание и обслуживание, высокие требования к квалификации обслуживающего персонала.

В целом касаясь проблемы идентификации компонентов в частности виноградных дистиллятов или вина – наилучшие результаты получают при сочетании нескольких методов анализа, как правило, обладающих

определенными преимуществами в каком-то направлении анализа или группы компонентов известного химического состава.

Причем по мере усиления контроля качества происходит расширение круга определяемых ведущих компонентов. Для этого осуществляют развитие инструментальной базы, разрабатывают и совершенствуют методики детектирования. Значительный массив исследовательской работы направлен на выявление комплексных показателей качества, базирующихся на совокупности количественных характеристик единичных параметров виноградных вин и их органолептической оценки. Определено, что используемая в классической аналитической химии методология контроля, базирующаяся на идентификации вин по ограниченному числу феноменологически подобранных параметров (исходя из личного опыта или фантазии исследователя), неприемлема, так как не дает какой-либо уверенности в правильности сделанных выводов; необходимо использовать принципиально другую, максимально формализованную, методологию контроля, основанную, например, на распознавании вина как целого, создавая «образ» контролируемого вина на основе вычисленных признаков [3]. Такой способ связан с выделением линейно-независимых факторов (параметров) методом главных компонент (МГК) из экспериментальных данных, описывающих МС с определенной точностью и не ограничен предпочтениями разработчика.

Безусловно, применяют методы математического планирования и обработки полученных данных. Проводят анализ «образа» вина, отражающий качественный и количественный состав ароматических и вкусовых компонентов. Выявление критериев подлинности и региональной принадлежности алгоритмами, позволяющих выявить скрытые взаимосвязи между изучаемыми переменными с оценкой вклада: метод главных компонент (МГК), дискриминантный анализ (ДА), искусственные нейронные сети (ИНС), метод формального независимого моделирования аналогов классов (SIMCA), кластерный анализ (КА) [269, 270].

В таблице 3 приведены данные систематизированных литературных и наших экспериментальных исследований [269] компонентного состава натуральных белых и красных виноградных вин различного географического происхождения.

Таблица 3 – Содержания различных компонентов в сухих белых и красных винах разного происхождения

Показатель, концентрация	Диапазон определяемых концентраций		Происхождение образца, ссылка
	белые вина	красные вина	
1	2	3	4
Глицерин, г/дм ³	–	5,2–6,8	Россия, [271]
	–	7,2	Россия, [271]
	–	2,7	Россия, [272]
	4,74–6,24	–	ЮАР, [273]
	4,6–5,1 5–15	– 5–15	Австралия, [273] Россия, [11]
Винная кислота, г/дм ³	2,1–3,1	–	Германия, [274]
	1,25–2,12		ЮАР, [273]
	1,69–2,24		Австралия, [273]
	1,5–5	1,5–5	Россия, [11]
Яблочная кислота, г/дм ³	0,4–2,9	–	Германия, [274]
	1,81–2,87	–	ЮАР, [273]
	1,53–2,45	–	Австралия, [273]
	1–5	1–5	Россия, [11]
Молочная кислота, г/дм ³	0,5–2,4	–	Германия, [274]
	0,05–0,89	–	ЮАР, [273]
	0,15–0,96	–	Австралия [273]
	0,5–5	0,5–5	Россия, [11]
Лимонная кислота, г/дм ³	0,1–0,5	–	Германия, [274]
	0–2,0		ЮАР, [273]
	<0,8		Россия, [11]
Янтарная кислота, г/дм ³	0,2–1,3	–	Германия, [274]
	0,4–1,7	–	Россия, [275]
	0,1–1,5	0,1–1,5	Россия, [11]
Уксусная кислота, г/дм ³	0,1–1,0	–	Россия, [275]
	0,4–1,1	–	Франция, [276]
	0,3–1,5	0,3–1,5	Россия, [11]

1	2	3	4
Аргинин, мг/дм ³	40–200	50–300	Россия, [277]
Треонин, мг/дм ³	40–100	50–500	Россия, [277]
Пролин, мг/дм ³	300–1000	600–2000	Россия, [277]
Фенилаланин, мг/дм ³	1–8	1–10	Россия, [278]
Триптофан, мг/дм ³	3–30	3–5	Россия, [278]
Тирозин, мг/дм ³	5–20	5–30	Россия, [278]
Сумма аминокислот, мг/дм ³	800–1500		Россия, [272]
	–	250–2500	Россия, [275]
Высшие спирты, мг/дм ³	610–2500		Франция, [279]
	80–150	80–150	Россия, [11]
Фенилэтиловый спирт, мг/дм ³	5–23		Франция, [279]
	20–200		Россия, [11]
Альдегиды, мг/дм ³	3–100		Франция, [279]
	10–75	–	Франция, [276]
	20–200		Россия, [11]
Хлориды, мг/дм ³	16–430		Украина, [280]
– нет значений по данному показателю			

Анализ представленных результатов показывает, что определить рамочные границы содержания компонентов в винах для установления их качества весьма затруднительно. Даже в виноматериалах, полученных из одного и того же сорта винограда, но различного территориального происхождения, сказывается инсоляция, почвенные условия, влагообеспечение, при этом содержания в них одних и тех же компонентов существенно отличаются. Определенное влияние на качественный состав вина оказывают регламентные работы по содержанию виноградников (обнаруживаются компоненты на уровне 0,005 мг/дм³) [281].

Сюда относят обработку виноградников биологически активными веществами, экстрактами растительного происхождения, микроудобрениями контактного типа, средствами для защиты ягод от избыточной инсоляции, препаратами для защиты лозы от низких температур зимнего периода [282 – 284].

2.2.1 Газохроматографическое определение компонентов дистиллятов и виноградных вин

Методы газовой хроматографии с середины XX века широко применяют для количественного анализа летучих компонентов различных жидких объектов органического происхождения. В ВЖХ контроле спиртосодержащих жидкостей и дистиллятов используют колонки и набивные, и капиллярные. Хроматографы должны быть оборудованы детекторами ДИП или катарометром, причем в последнем случае возможно проведение характеристического дегустационного анализа веществ, регистрируемых детектором. Реализация ГХ-МС позволяет выполнить идентификационные исследования микропримесей. Тем не менее, при проведении ГХ-анализа виноградного вина существуют определенные сложности: шумовые помехи за счет термического воздействия на пробу, содержащую органические и аминокислоты, углеводы, фенольные вещества. Подготовка путем дистилляции к ГХ-анализу пробы красного вина, имеющего экстрактивность выше 40 г/дм^3 , приводит к завышению содержания фурфурола в 10 раз, ацетона – в 5 раз, диацетила – в 3–6 раз, появлению многочисленных пиков неидентифицированных веществ на хроматограмме. В итоге это является причиной ошибочных выводов о качестве продукта.

2.2.2 Методические подходы к газохроматографическому определению летучих компонентов винных дистиллятов и виноградного вина

Рядом НД установлены предельные нормативы по содержанию летучих компонентов в дистиллятах из винограда или фруктового сырья: ГОСТ 31763-2012 «Спирт винный». ТУ, ГОСТ 55461-2013 «Спирт виноградный». ТУ, ГОСТ Р 55459-2013 «Дистиллят виноградный». ТУ, ГОСТ 32160-2013 «Дистиллят

фруктовый (плодовый)». ТУ, ГОСТ 31493-2012 «Дистиллят винный» [285-289]. Основные показатели состава дистиллятов, согласно действующим НД, показаны в таблице 4.

Согласно приведенных в таблице 4 данных химический состав для нормируемых летучих компонентов виноградных дистиллятов может изменяться в широких пределах.

Таблица 4 – Нормируемые показатели качества дистиллятов виноградного и фруктового происхождения

Показатель, массовая концентрация, мг/дм ³	Нормативный документ				
	ГОСТ 31763- 2012	ГОСТ 55461- 2013	ГОСТ Р 55459- 2013	ГОСТ 32160- 2013	ГОСТ 31493- 2012
Этанол, % об., не менее	86	86	86	Не более 86	Не более 86
Альдегиды, не более	10	–	–	–	30–500
Высшие спирты, не более	50	200	1400	2000	1600–6000
Эфиры, не более	50	200	1400	2000	300–2700
Метанол, % об., не более	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Кислоты, не более	20	–	–	–	2500
Фурфурол, не более	–	–	–	–	30
– не нормируется					

В настоящее время в производстве ликерных, типа портвейна вин, допускается использование только этилового спирта виноградного происхождения. Для обеспечения высоких вкусовых характеристик вина спирт должен быть ректифицированный, соответствующий по своему качеству зерновым спиртам-ректификатам первого сорта. Количество ректифицированного виноградного спирта довольно ограничено ресурсами винограда, поэтому

категория ликерных виноградных вин невелика по объему. Виноградные вина, в технологии которых используют ректифицированные зерновые спирты, относят к винным напиткам. Между ликерными и натуральными винами существуют определенные различия. Для ликерных вин, в отличие от натуральных, характерно наличие значительных количеств уксусного альдегида и продуктов его реакции со спиртами – ацеталей. Содержание уксусного альдегида в винах типа портвейн может изменяться от десятков до нескольких сотен мг/дм³. Непосредственно участвуя в формировании букета вина, уксусный альдегид взаимодействует в первую очередь с этиловым спиртом, как со спиртом, имеющим максимальную концентрацию в вине, образуя ацеталь, являющийся важным компонентом вина. Имеют место реакции конденсации ацетальдегида с образованием диацетила, ацетоина, пентандиона.

Контроль массовой концентрации альдегидов, сложных эфиров, метанола, высших спиртов осуществляют фотоколориметрическими методами, а индивидуальных компонентов – химическими реакциями, однако наиболее полную информацию состава с минимальными затратами на пробоподготовку (соответственно повышенной надежности) можно получить только методом капиллярной ГХ.

Необходимо отметить, что в ряде случаев, например, при анализе водных растворов, происходит некоторое изменение времени миграции компонентов, элюируемых после высокополярного соединения, присутствующего в смеси в большой концентрации, как это наблюдается при анализе спиртосодержащих жидкостей – виноградного вина, винных напитков, настоев. Продукты хроматографического разделения могут быть идентифицированы с помощью специфических реакций, органолептической оценкой дегустаторами, масс-спектрометрией низкого или высокого разрешения, время-пролетной ГХ-МС.

К недостаткам метода следует отнести постепенное загрязнение рабочей поверхности детектора и дозатора, возможное образование микротрещин при эксплуатации кварцевой капиллярной колонки, при частой смене ее или при

длительном хранении. Под воздействием высоких температур инжектора (детектора) возможно самопроизвольное разрушение кварцевого капилляра, что нарушает его проходимость и значительно искажает результаты анализа. Восстановления свойств достигают удалением 0,2–0,4 м начального участка колонки, при этом проводят повторную калибровку хроматографа, операция может повторяться вплоть до потери разделения наиболее критичных компонентов калибровочной смеси (2-пропанол-этанол).

Определение летучих компонентов в винных дистиллятах и винах может быть выполнено несколькими способами, в том числе капиллярной ГХ, ГОСТ Р допускает применение только химических методов измерения для дистиллятов [290, 291]. Выполнено сравнение результатов анализа, полученных разными способами. Предварительные исследования показали, что расхождения между двумя методами наблюдались по всем группам нормируемых примесей. Было проведено сравнение результатов определения массовой концентрации альдегидов, высших и многоатомных спиртов в модельных растворах на основе спирта-ректификата «люкс» различными методами. Результаты измерений показаны в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты определения альдегидов и спиртов (мг/дм^3 б.с.) различными методиками в модельных растворах ректифицированного этанола

Параметр для контроля	Способ анализа				Параметр для контроля	Способ анализа	
	1	2	3	4		3	4
Внесение по 40 мг/дм^3 б.с.	К	ФК	ФК	ГХ	Внесение по 100 мг/дм^3 б.с.	ФК	ГХ
Контроль (исх)	42	48	47	48	2-пропанол	8	98
Крононовый альдегид	43	120	48	68	2-бутанол	230	101
Каприновый альдегид	41	48	49	68	2,3-бутиленгликоль	33	104
Фурфурол	43	50	67	69	Глицерин	6	97
Ацетальдегид	63	70	68	68	Амилол	12	103
1 – колориметрически с фуксинсернистым реактивом 1, 2, 3 – фотоколориметрия, 4 – ГХ							

Наличие в модельной смеси кротонового альдегида приводит к трехкратному завышению результатов измерений массовой концентрации альдегидов. Чтобы выяснить причину этих расхождений, была проверена линейность реакции пирогаллола и фуксинсернистого реактива 1 с калибровочными смесями ацетальдегида, кротонового альдегида, фурфурола, капринового альдегида. В результате анализа модельных смесей выяснено, что уксусный альдегид с обоими реактивами реагирует одинаково линейно. Фурфурол и каприновый альдегид с фуксинсернистым реактивом 1 практически не реагировали, с пирогаллолом (способ 3) реагировали соответственно на 10 и 14% от заданного содержания. Аналогичные результаты получены для сравнительного испытания определения высших спиртов в ходе принятых химических реакций и капиллярной ГХ. Сравнительные испытания однокомпонентных растворов каждого высшего спирта в 40% об этаноле показали, что некоторые спирты не участвуют в фотоколориметрической реакции и не вносят вклада в суммарное содержание (рисунок 1).

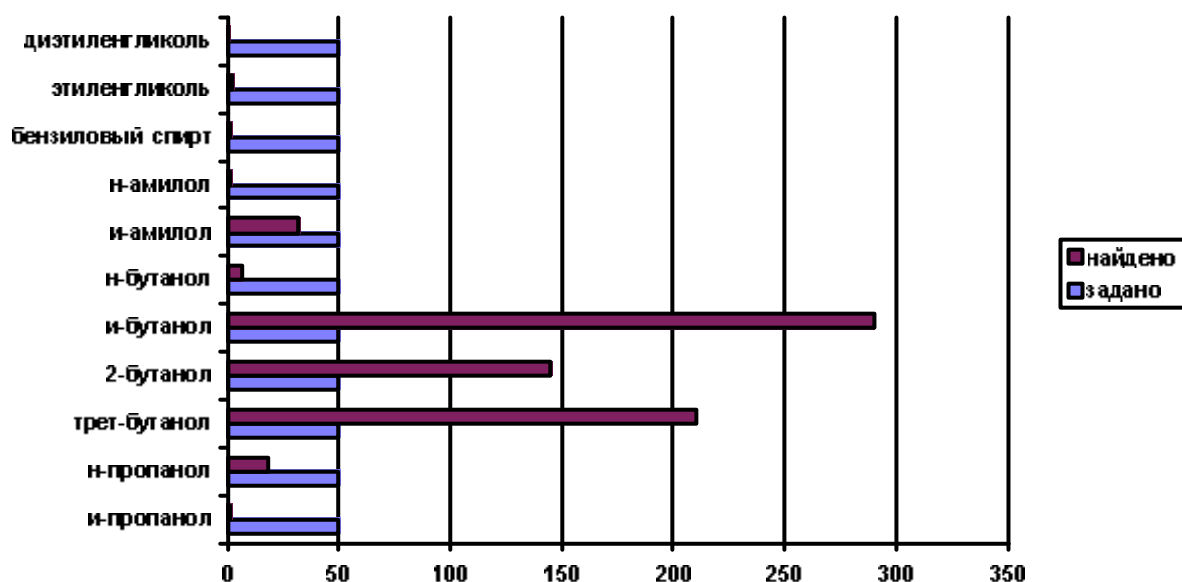


Рисунок 1 – Реакционная способность высших спиртов в модельных растворах 40% об этанола, мг/дм³ б.с.

Для дистиллятов, имеющих нестабильные термически компоненты, возможно получение результатов, когда содержание высших спиртов, согласно газохроматографическому методу, выражается суммой 2-пропанола и 1-пропанола, а химический метод дает сумму спиртов практически в два раза больше реального содержания. Наблюдали расхождения и для сравнительного анализа массовой концентрации сложных эфиров в одних и тех же образцах этими методами. Результаты, полученные методом омыления эфиров, оказались значительно выше (в 1,2–1,7 раза) чем ГХ. Другой способ определения концентрации сложных эфиров по реакции с гидроксамовой кислотой (ГОСТ 5363) дает результаты, совпадающие с ГХ-анализом на 93–97%.

Измерение объемной доли метанола методом ГЖХ дает, как правило, более близкие к истинным результаты – в большинстве случаев содержание метанола составляет от 0,05 до 0,15% об б.с. Метод анализа с фуксинсернистым реактивом 2 искажает результаты измерений концентраций метанола при его содержании менее 0,01%. В целом оба химических метода (с фуксином или хромотроповой кислотой) позволяют надежно регистрировать концентрации метанола более 0,05% об, для этого количества результаты анализов соизмеримы с ГЖХ, расхождение составляет не более 6–8% измеряемой концентрации.

Количественное определение в дистиллятах и винах вторичных спиртов – 2-пропанола и 2-бутанола, содержанию которых в настоящее время уделяется значительное внимание, практически невозможно химическими методами. Это связано с низкими концентрациями указанных компонентов в анализируемых продуктах, нарушения технологических режимов могут приводить к росту концентраций этих веществ. Одна из причин повышенного внимания к вторичным спиртам – это то, что в организме человека они окисляются до соответствующих кетонов: ацетона и 2-бутанона, наличие которых в крови человека нежелательно. Другой причиной может быть тот факт, что, по мнению медицинских работников, поступление вторичных спиртов в организм человека

может предрасполагать к различным формам тяжелых заболеваний. Оптимальным способом определения данных веществ является капиллярная ГХ.

2.2.3 Определение летучих компонентов виноградных дистиллятов

С учетом достоинств и преимуществ капиллярной ГХ была изучена возможность ее применения для определения летучих компонентов виноградного дистиллята.

Оптимизация условий газохроматографического определения.

При ГХ-определении компонентов с малым временем удерживания использование азота в качестве газа-носителя более выгодно, чем водорода или гелия. Водород предпочтителен при больших скоростях газа-носителя в колонке в случае анализа соединений с большими временами удерживания. Значительное влияние на качество разделения компонентов оказывает температурный режим хроматографа и стабильность его поддержания.

Выбор колонки. Для корректного выполнения ГХ-определения летучих компонентов вина требуется колонка с высокой полярностью, способная разделять свободные летучие кислоты. Необходимая чувствительность анализа достигается достаточно большим объемом дозируемой пробы – увеличение диаметра колонки и немаловажный фактор – ее способность выдерживать перегрузку по количеству пробы и быть устойчивой к высокому содержанию воды в пробе, что актуально для винодельческой продукции.

Количественный хроматографический анализ предусматривает градуировку прибора в прямой форме (абсолютная градуировка) или в косвенной (внутренняя нормализация, внутренний стандарт). Метод абсолютной градуировки основан на использовании зависимости между количеством компонента в пробе и параметром пика, определяемой экспериментально и заключается в построении графической зависимости одного из количественных

параметров хроматографического пика (обычно высоты или площади) от содержания вещества в пробе. Важнейшими требованиями к эксперименту при выполнении количественного анализа по методу абсолютной градуировки являются точность и воспроизводимость дозирования пробы, строгое соблюдение идентичности условий хроматографирования при градуировке хроматографа и при определении содержания интересующего вещества в пробе неизвестного состава. Последнее условие особенно тщательно должно соблюдаться при градуировке по высотам пиков. Методом абсолютной градуировки чаще всего пользуются в тех случаях, когда есть сомнения в линейной работе детектора, и при определении некоторых компонентов анализируемой смеси, особенно часто при анализе примесей в образце [290]. В соответствии с этим условия хроматографического анализа должны обеспечивать, по возможности, полное разделение лишь пиков интересующих компонентов на хроматограмме.

Высокая избирательность и улучшенная чувствительность получены при использовании 50 м стальной колонки с внутренним диаметром 0,32 мм вместо колонок с внутренним диаметром 0,2 мм и менее.

Условия ГХ-анализа на «Кристалл-2000М» подобраны следующие: стальная (кварцевая) капиллярная колонка длиной 50 метров, внутренний диаметр 0,32 мм; заполнение: (полиэтиленгликоль-600):(1,2,3,-трис-бетта-цианэтоксипропан):(полипропиленгликольадипинат) в соотношении 3:2:1; температура инжектора – 170°C; температура подогрева детектора ДИП – 170°C; входное давление на колонке в начале анализа 50 кПа; температуру термостата колонок 40°C после выхода пика этанола поднимали до 75 °C; после выхода пика 1-амилола (внутренний стандарт), температуру термостата колонок устанавливали равной 90°C и оставляли до конца анализа; инжектор с делением потока 1:12; объем пробы – 2 мм³; газ-носитель – азот; расход водорода 15 см³/мин; расход воздуха – 230 см³/мин; время анализа – 140 мин.

Заполнение колонки проводили следующим образом: в стеклянную микропробирку вносили 42 мг полиэтиленгликоля-600, 21 мг 1,2,3-трис-бета-циан-этоксипропана, 7 мг полипропиленгликольадипината и добавляли 480 мг ($0,6 \text{ см}^3$) этилацетата, перемешивали до растворения смеси. Концентрация НЖФ составляла 12,7%, этот объем применяли для заполнения колонки длиной 50 м, внутренним диаметром 0,32 мм. Микропробирку закрывали резиновой пробкой с двумя отверстиями: одно для подачи давления азота, в другое опускали до дна жидкости тот край капиллярной колонки, который будет подключен к детектору. Подавали давление 30 кПа и методом пробки в течение 1,5–2 часов заполняли колонку. Регистрировали входное давление и при появлении жидкости из колонки его удерживали около 35 кПа, добиваясь равномерного истечения жидкости. После выхода последней капли жидкости колонку помещали в термостат хроматографа, к инжектору подключали тот край, который будет включаться в детектор, и кондиционировали при 40°C (входное давление 30 кПа) в течение 2 часов, затем постепенно повышали температуру до 90°C . После 10 часов кондиционирования температуру 30 раз повышают до 130°C , каждый раз на 2 минуты, выключали нагрев, допуская остывание термостата естественным путем до 50°C . В это время происходит реакция между компонентами фазы, она приобретает температурную стабильность, резко уменьшается фон колонки при повышенных температурах, увеличивается срок использования колонки. По мере эксплуатации может происходить ухудшение разделения метанола и этанола, что требует понижения стартовой температуры анализа или перезаполнения колонки. Капиллярная колонка, используемая для прямых анализов виноградных вин (определение концентрации ацетона, глицерина, бутиленгликолей, летучих кислот), может быть перезаполнена с использованием следующей последовательности промывки: ацетон, бензол, диэтиловый эфир, метанол, хлористый метилен. Объем растворителя для промывки колонок внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 50 м составляет $3\text{--}5 \text{ см}^3$; давление газа при этом процессе соответствует $50\text{--}200 \text{ кПа}$.

Для количественных расчетов содержания компонентов в пробе применяют метод внутреннего стандарта (1-амилол). Коэффициенты чувствительности вычисляют для каждого компонента градуировочной смеси (производства РФ или зарубежной) с использованием программного обеспечения хроматографа. Порядок и время выхода компонентов в указанном режиме анализа приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Порядок и время (мин) выхода компонентов градуировочной смеси

№	Компонент	Время выхода	№	Компонент	Время выхода
1	Диэтиловый эфир	7,1	14	Изобутанол	37,5
2	Ацетальдегид	10,2	15	Изоамилацетат	38,2
3	Этилформиат	12,15	16	Этилвалериат	39,1
4	Метилацетат	13,2	17	Диэтоксипентан	40,5
5	Этилацеталь	16,4	18	1-бутанол	47,2
6	Этилацетат	17,5	19	Метил-3-бутанол-1	53,1
				Метил-2-бутанол-1	54,3
7	Метилэтилкетон	18,2	20	1-амилол	58,3
8	Метилпропионат	19,1	21	1-гексилацетат	65,4
9	Метанол	20,2	22	1-гексанол	71,5
10	Этанол	24,3	23	Этилкаприлат	80
11	2-бутанол	31,2	24	Этиллактат	82
12	1-пропанол	33,3	25	Фурфурол	94
13	Кротоновый альдегид	36,3	26	Этилкапринат	98

В экспериментах по подбору оптимального соотношения тройной НЖФ использованы следующие варианты

1) НЖФ: полиэтиленгликоль-600 + 1,2,3,-трис-бетта-цианэтоксипропан + полипропиленгликольадипинат в соотношении 3:2:1;

2) НЖФ: полиэтиленгликоль-600 + 1,2,3,-трис-бетта-цианэтоксипропан + полипропиленгликольадипинат в соотношении 3:1,5:0,5;

3) НЖФ: полиэтиленгликоль-600 + 1,2,3,-трис-бетта-цианэтоксипропан + полипропиленгликольадипинат в соотношении 3:1:0,5;

4) НЖФ: полиэтиленгликоль-600 + 1,2,3,-трис-бетта-цианэтоксипропан + полипропиленгликолядипинат в соотношении 3:1:0,25;

Заполненные колонки подготавливали к работе по вышеприведенной схеме и тестировали на степень разделения критичных для анализа дистиллятов и виноградных вин пар компонентов – метанол-этанол, метил-2-бутанол-1 и метил-3-бутанол-1, (таблица 7).

Таблица 7 – Сравнение критериев подбора неподвижных фаз

Вариант НЖФ использованной для заполнения колонки	Коэффициент разделения пары метанол-этанол,	Коэффициент корреляции метанола	Коэффициент разделения пары метил-2-бутанол-1 и метил-3-бутанол-1
1	1,1	0,9965	0,95
2	0,90	0,9932	0,80
3	0,60	0,9456	0,60
4	0,40	0,8456	0,30

На основании полученных данных был сделан вывод, что вариант заполнения строки № 1 (таблица 7) лучше других удовлетворяет условиям анализа. Кроме того, в вариантах № 2–4 после 20 измерений существенно ухудшались показатели разделения пар компонентов, приведенные в таблице, и фактически требовалось перезаполнение колонки. Установлены границы относительной погрешности (таблицы 8–9).

Проверена применимость для аналогичных измерений 50 м кварцевой капиллярной колонки HP FFAP с внутренним диаметром 0,32 мм (производство США), которой был оборудован хроматограф «Кристалл-2000 М»; условия ГХ анализа следующие: температура инжектора хроматографа – 170°C; температура подогрева детектора ДИП – 170°C; входное давление азота на колонке – 60 кПа; температура термостата колонок 50°C, изотерма 7 мин, затем программирование температуры со скоростью 5°C/мин до 140°C, выдержка 20 мин, затем программирование температуры со скоростью 10°C/мин до 170°C и выдержка до

Таблица 8 – Границы относительной погрешности (%) измерения массовой концентрации летучих компонентов в винных дистиллятах и винах

Компонент	Массовая концентрация, мг/дм ³	Границы относительной погрешности
Высшие спирты 2-пропанол, 1-пропанол 2-бутанол, изобутанол 1-бутанол, изоамилол 1-амилол, 1-гексанол	от 0,5 до 10,0	±14
	свыше 10,0 до 5000	±4
Сложные эфиры: Метилацетат Этилацетат Изоамилацетат Этилкаприлат Этиллактат	от 0,5 до 10,0	±9
	свыше 10,0 до 5000	±5
	от 0,5 до 10,0	±12
	свыше 10,0 до 5000	±4
Метанол	от 1 до 10,0	±20
	свыше 10,0 до 100	±8
	свыше 100 до 2000	±5

Таблица 9 – Нормативы оперативного контроля (%) измеряемых массовых концентраций (мг/дм³) летучих компонентов

Компонент	Массовая концентрация	Нормативы оперативного контроля (%)		
		сходимости, $n = 2$, при $P = 0,95$	воспроизводимости, $m = 2$, при $P = 0,95$	погрешности при $P = 0,90$
Высшие спирты	от 0,5 до 10,0	14	39,2	27,4
	свыше 10,0 до 5000	4	11,2	8
Сложные эфиры	от 0,5 до 10,0	9	25,2	17,6
	свыше 10,0 до 5000	5	14	9,8
Ацетальдегид	от 0,5 до 10,0	12	33,6	23,5
	свыше 10,0 до 5000	4	11,9	8
Метанол	от 1 до 10,0	20	56	39,2
	свыше 10,0 до 100	8	22,4	15,7
	свыше 100 до 2000	5	14	9,8

конца анализа не менее 20 минут; испаритель с делением потока 1: 33; поток газаносителя через колонку – 1,21 см³/мин; объем пробы – 2 мм³; расходы водорода – 25, воздуха – 250 см³/мин; время анализа – 60 мин.

Порядок и время выхода (мин, сек) компонентов в указанном режиме анализа приведены в таблице 10. Этилацеталь и этилацетат в данных условиях анализа полностью не разделяются (коэффициент 0,3); не разделяются изомеры амилового спирта: метил-3-бутанол-1 и метил-2-бутанол-1; 2-пропанол в концентрациях до 5 мг/дм³ практически не заметен на фронте пика этанола.

Таблица 10 – Порядок и время выхода летучих веществ дистиллятов и вина на капиллярной колонке FFAP, мин

№	Компонент	Время выхода	№	Компонент	Время выхода
1	Ацетальдегид	6:06	17	Изоамилацетат	12:51
2	Ацетон	6:30	18	Этилвалернат	13:10
3	Этилформиат	6:37	19	1-бутанол	13:37
4	Метилацетат	6:44	20	Метил-3-бутанол-1 Метил-2-бутанол-1	15:01 15:09
5	Этилацеталь	7:22	21	1-амилол	17:08
6	Этилацетат	7:31	22	1-гексилацетат	20:12
7	Метанол Бутанон-2	7:36 7:46	23	Этиллактат 1-гексанол	20:40 20:57
9	Метилпропионат	7:52	24	Этилкаприлат	23:18
10	Этанол	8:20	25	Уксусная кислота	23:53
11	2-пропанол	8:05	26	Фурфурол	24:38
12	Диацетил	9:31	27	Линалоол	25:31
13	Изобутилацетат 2-бутанол	10:00 10:08	28	2,3-бутандиол (мезоформа)	26:20
14	1-пропанол	10:22	29	2,3-бутандиол (рацемат)	27:22
15	Этилбутират	10:38	30	2-фенилэтанол	40:09
16	Изобутанол	12:05	31	Ионон	41:00

При соблюдении определенных условий можно добиться неполного разделения изомеров амилового спирта, пригодного для количественного

анализа. Для корректного ГХ измерения в вине массовых концентраций ацетона, уксусной кислоты, 2,3-бутиленгликоля, этиллактата, глицерина использование отгонов (дистилятов) для анализа недопустимо. Значительное содержание в винодельческой продукции антоцианов, углеводов, аминокислот, фенольных соединений и последующее их разложение в инжекторе приводит в конечном итоге к значительному ухудшению параметров капиллярной колонки. Поэтому прямое измерение можно рекомендовать только для белых сухих вин при разведении дистиллированной водой в 2–4 раза.

Для ликерных или вин типа портвейна можно рекомендовать метод отгонки с водяным паром труднолетучих компонентов, однако следует учитывать, что за счет многократного разбавления возрастает погрешность анализа и снижается точность определения (таблица 11).

Таблица 11 – Результаты ГХ определения некоторых полярных летучих веществ виноградного вина на капиллярной колонке FFAP при разных условиях подготовки проб

Компонент, заданная концентрация мг/дм ³	Без отгона, 5 повторов мг/дм ³	Дистилят, 5 повторов мг/дм ³	Отгон с водяным паром, 5 повторов, мг/дм ³
Уксусная кислота, 100	97±8	42±4	42±4
2,3-Бутиленгликоль, 100	103±7	21±3	21±3
Уксусная кислота, 200	208±11	42±4	42±3
2,3-Бутиленгликоль, 200	194±16	37±4	37±4
Уксусная кислота, 500	487±31	107±12	107±10
2,3-Бутиленгликоль, 500	473±22	83±13	83±10
Фурфурол, 10	9,2±11	12,1±1,5	12,1±1
Фурфурол, 20	19,3±11	24,3±3	24,3±2
Фурфурол, 10, в присутствии углеводов, фенольных веществ	10,9±11	25,8±4	25,8±3
Фурфурол, 20, в присутствии углеводов, фенольных веществ	21,1±11	73,6±8,5	73,6±6

В исключительных случаях может быть выполнен прямой анализ красных сухих вин при разведении дистиллированной водой в 10 раз.

Влияние газа-носителя. На следующем этапе изучена замена азота на аргон, которая может принести положительный результат в случае длительной эксплуатации капиллярной колонки и ухудшения ее характеристик для разделения компонентов.

При загрязнении входного края капиллярной колонки и в результате удаления этого начального фрагмента колонки были проведены эксперименты по исследованию возможности эксплуатации колонки с использованием более тяжелого газа-носителя. Был выбран аргон в качестве возможной замены для азота, а сами анализы выполнены при дозировании калибровочных аттестованных смесей. Режимы, примененные для исследования влияния замены газа-носителя на результаты анализа, показаны в следующих вариантах.

Вариант 1.

Газ-носитель – аргон; входное давление на колонке – 55 кПа; температура термостата колонок 50°C, изотерма 7 мин, затем программирование температуры со скоростью 5°C/мин до 140°C, выдержка 20 мин, затем программирование температуры со скоростью 10°C/мин до 160°C и выдержка до конца анализа не менее 40 мин; инжектор с делением потока 1: 30; поток газа-носителя через колонку – 1 см³/мин;

Вариант 2.

Газ-носитель – аргон; входное давление на колонке – 60 кПа; температурные условия термостата колонок аналогичные варианта 1; инжектор с делением потока 1: 30; поток газа-носителя через колонку – 1,1 см³/мин;

Вариант 3.

Газ-носитель – аргон; входное давление на колонке – 65 кПа; температурные условия термостата колонок аналогичные варианта 1; испаритель с делением потока 1: 30; поток газа-носителя через колонку – 1,2 см³/мин.

Результаты анализа тестовой смеси, содержащей метанол, в указанных вариантах 1–3 приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты исследования качества разделения компонентов в случае замены азота на аргон

№ вариант	Коэффициент разделения пары метанол-этанол	Коэффициент корреляции метанола	% увеличения времени анализа
1	1,2	0,9875	35
2	1,1	0,9453	25
3	1,1	0,9235	10

Результаты исследования показали, что замена азота на аргон позволила в оптимальном варианте обеспечить высокий коэффициент разделения пары метанол-этанол и лишь на 10% увеличить общее время анализа. Колонку с нарушенным режимом разделения в случае использования газа-носителя азота (удаление начального фрагмента колонки в связи с ее длительной эксплуатацией) можно использовать для качественного разделения компонентов вина при замене азота на аргон: установлена стабильность коэффициентов чувствительности – только требуется корректировка времени удерживания компонентов.

2.2.4 Химический состав спирта-сырца, выработанного

различными предприятиями Краснодарского края в 1997–2006 гг.

Для анализа химического состава спирта-сырца были отобраны пробы со следующих предприятий Краснодарского края агрофирма «Южная», винзаводы ТОО «Витязево» и СПК им. Ленина, винзавод «Саук-Дере», ТОО «Джемете», АОЗТ «Кубань». Спирт-сырец представлял собой смесь спиртов, полученных из диффузионного сока, дрожжевых и клеевых (без ЖКС) осадков или был выработан из одного вида сырья. Во всех образцах контролировали концентрацию этанола, метанола, высших спиртов, альдегидов, эфиров и органолептические показатели (таблица 13).

Таблица 13 – Химический состав дистиллятов
предприятий Краснодарского края, 1997–1998 гг.

Показатель	Наименование предприятия					
	АФ «Южная»	ЗАО «Победа»	ТОО «Витязево»	«Саук- Дере»	АОЗТ «Кубань»	ТОО «Джемете»
Объемная доля этилового спирта, %	62,55– 72,50	92,5	84,6	80,6	66,24– 73,00	78,15– 78,45
Метиловый спирт, г/дм ³	0,6– 1,39	0,1	1,6	0,7	0,9–1,5	0,7–1,1
Высшие спирты, мг/дм ³ б.с.	1800– 4948	4700	2600	4100	3000– 4800	4700
Альдегиды, мг/дм ³ б.с.	178,0– 335,0	61,8	263	168	174– 168	180
Эфиры, мг/дм ³ б.с.	1058– 1860	571,0	2070	1006	1465– 2000	2198,0– 2252,0
Фурфурол, мг/дм ³ б.с.	–	–	–	–	40,0– 107,5	2,6–3,8
– не обнаружено						

Сравнение результатов ГХ анализа позволило установить наличие практически во всех образцах этилового эфира, кроме спиртов АОЗТ «Победа». Концентрация уксусного альдегида изменялась от 2,6 до 75 мг/дм³, изомасляный альдегид обнаружен в концентрациях от 9,3 до 117 мг/дм³. Практически во всех образцах присутствовали такие ценные компоненты дистиллятов коньячного типа, как метилацетат (1,6–42,0 мг/дм³) и этилформиат (2,2–13,0 мг/дм³); значительные концентрации этилацетата отмечены для спиртов ТОО «Витязево» – 1735 мг/дм³ и ТОО «Джемете» – 876–993 мг/дм³, что придавало спиртам специфический тон и резкость. Изоамилацетат, этилвалериат обнаружены лишь в спиртах АОЗТ «Победа», их концентрации составили 18 и 26,1 мг/дм³, этилбутират не был обнаружен ни

в одном из исследованных образцов. В остальных спиртах концентрация указанных эфиров не превышала 10 мг/дм^3 . Концентрация этилкаприлата в спиртах АФ «Южная» оказалась самой высокой для исследованных спиртов и достигала $656,8 \text{ мг/дм}^3$, этиллактат изменялся в пределах 0 до $133,5 \text{ мг/дм}^3$, концентрация фурфурола изменялась от 0 до $58,4 \text{ мг/дм}^3$. Особое внимание следует обратить на присутствие во всех образцах 2-бутанола – от $60,9$ до 1733 мг/дм^3 . Значительные концентрации 1-пропанола (1812 мг/дм^3 в спиртах ТОО «Витязево») также неблагоприятно сказывались на органолептической оценке спиртов. Количество изо-бутанола было уже значительно меньше концентрации 2-бутанола и 1-пропанола и составляло $186\text{--}1040 \text{ мг/дм}^3$; концентрация изомеров амилового спирта изменялась в пределах $56,5\text{--}1556 \text{ мг/дм}^3$. Соотношение между содержанием изомеров амилового спирта выдерживалось в основном в пределах 1:5, то есть близко к аналогичным показателям коньячных дистиллятов. Количество 1-гексанола не превышало $6,1 \text{ мг/дм}^3$, отмечено присутствие неидентифицированных компонентов практически во всех дистиллятах. В целом можно отметить, что лучшие результаты были в вариантах спиртов, полученных путем фракционной перегонкой спиртосодержащего сырья.

В сезонах 1999–2002 гг. было отмечено более высокое сахаронакоплением и меньшее количество поврежденного болезнями винограда. Кроме того, по нашим рекомендациям многие предприятия осуществляли быструю переработку выжимки и разделяли спирты в зависимости от вида сырья. Полученные результаты показали, что качество продукции предприятий края значительно улучшилось: уменьшились концентрации всех основных примесей спирта-сырца. Результаты исследований спиртов АФ «Южная» приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Массовая концентрация летучих компонентов (мг/дм³ б.с.) в спирте-сырце АФ «Южная», Р = 0,95 (1999–2002 гг.)

Компонент	Год выработки спирта-сырца			
	1999 г.	2000 г.	2001 г.	2002 г.
Ацетальдегид	8,3	3,8	25,1	7,0
Метилацетат	–	0,2	1,5	0,6
Этилацеталь	4,5	0,8	15,3	3,0
Этилацетат	50,0	17,0	84,0	77,4
Метанол	402	380	390	512
2-бутанол	301,2	107,8	118,3	456,4
1-пропанол	301,2	80,0	143,5	365,6
Изобутанол	40,9	15,0	49,2	36,2
Изоамилацетат	–	–	–	–
Этилвалернат	–	0,2	2,6	–
Пентан-1,1-диэтоксид	–	0,5	0,9	1,3
1-бутанол	145,3	133,3	19,7	311,4
Метил-2-бутанол-1	18,4	5,6	22,5	18,0
Метил-3-бутанол-1	73,6	24,2	100,7	85,0
1-гексанол	9,3	2,9	11,7	11,1
Этилкаприлат	18,5	4,9	72,3	47,6
Этиллактат	11,0	1,9	21,0	–
Фурфурол	–	–	–	–
Этилкапринат	–	–	3,5	–
– не обнаружено				

В продукции АФ «Южная» следует отметить невысокое содержание изоамиловых спиртов, а также более тяжелых компонентов, значительно влияющих на качество продукции. Несколько больше изоамиловых спиртов содержали дистилляты ТОО «Джемте»; дистилляты ЗАО «Кубань» занимали промежуточное положение. По сравнению с 1997–1998 гг. следует отметить значительное уменьшение концентраций 1-бутанола и 2-бутанола, этилацетата и суммарного содержания эфиров; отсутствие диэтилового эфира и сопутствующих ему двух легколетучих неидентифицированных компонентов во всех исследованных образцах спиртов. Качество спиртов, выработанных в 1999–2002 гг., оказалось существенно выше, чем в 1997–98 гг.

Состав винных дистиллятов, выработанных в 2003–2005 гг., представлен в таблице 15 на примере АФ «Южная». Сопоставляя данные 2003–2005 гг. с результатами предыдущих исследований, следует отметить наличие значительно большего количества уксусного альдегида. Содержание остальных основных компонентов продукции 2003–2005 г. несколько больше, чем для 1999–2002 гг., но все же значительно ниже показателей 1997–1998 гг.

Таблица 15 – Массовая концентрация летучих компонентов, полученных методом ГХ (мг/дм³ б.с.) в винных дистиллятах АФ «Южная» (2003–2005 гг.)

Компонент	Год исследований		
	2003	2004	2005
Ацетальдегид	110,0	862,0	161,0
Этилацетат	256,0	324,5	67,2
Метанол	488,0	1000,0	250,0
Этилбутират	14,0	61,0	–
2-бутанол	434,0	517,0	166,7
1-пропанол	716,0	615,0	195,0
Изобутанол	191,0	248,0	77,2
1-бутанол	33,5	164,5	36,7
Метил-2-бутанол-1	98,0	170,0	49,2
Метил-3-бутанол-1	484,0	640,0	213,3
1-гексанол	81,0	82,0	–
Этиллактат	118,0	143,0	46,0
Этилкаприлат	132,0	46,0	18,0
Этилкапринат	36,0	69,0	4,0
– не обнаружено			

В связи с аномальными повреждениями виноградной лозы из-за морозной зимы 2005/2006 г. на территории Краснодарского края и соответственно потерей урожая (в Крымской районе края 100% гибель виноградников, анапо-темрюкская зона до 70% гибели), исследований винных дистиллятов 2006–2009 гг. не проводилось. По результатам проведенных исследований подготовлены материалы для разработки ГОСТ Р, оформлены акты внедрения результатов исследования (Приложение А-1).

2.3 Электрофоретическое определение ионных компонентов виноградных вин

2.3.1 Электрофоретическое определение калия, натрия, магния, кальция, аммония, общего азота

Содержание катионов щелочных и щелочноземельных металлов характеризует качество, натуральность, происхождение виноградного вина, его биологическую ценность. Данные по массовым концентрациям, в частности, содержание изотопов, лития, рубидия, магния, стронция могут быть использованы для установления происхождения вина. Обоснование и разработка надежного способа определения массовой концентрации калия, натрия, магния, кальция в виноградных винах представляют интерес не только для установления содержания биологически активного иона – калия, как одного из критериев подлинности вин, но и для регламентирования технологических операций, направленных на достижение потребительского качества продукции. Следует отметить, что данный критерий имеет вариабельность, частичное снижение концентраций калия, натрия, магния, кальция – основных элементов, ответственных за розливостойкость впоследствии получаемого вина, происходит в результате брожения виноградного сусла, когда в дрожжевой осадок поступают соли винной кислоты. Аналогичный процесс происходит во время обработки холодом готовых продуктов. Технология ликерных (или типа портвейна) вин, в отличие от сухих, предусматривает частичное брожение и последующую его остановку спиртом из виноградного сырья, что препятствует существенному изменению ионного состава.

Регулирование содержания указанных катионов в условиях производства выполняют несколькими методами: обработка холодом, фактически сразу после сезона виноделия в естественных условиях, использование холодильных

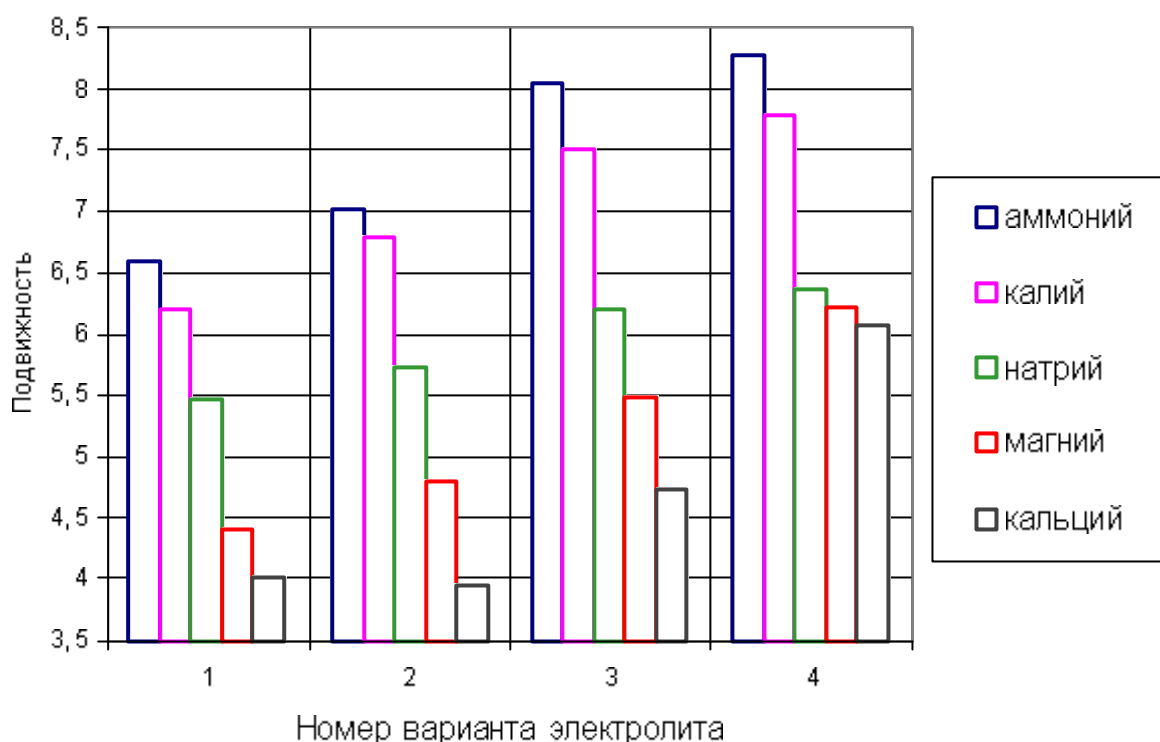
установок и теплообменников, применение установок для электродиализа, внесение заправки солей винной кислоты [292]. Знание содержаний металлов также позволяет принять решение об окончании процесса обработки холодом и, таким образом, установить неэффективность дальнейшей обработки и оптимизировать нерациональный расход энергоносителей на работу холодильных установок и вспомогательной аппаратуры.

Химические методы количественного определения катионов щелочных и щелочноземельных металлов в винах длительны в исполнении и не всегда обеспечивают объективный результат; эмиссионные или атомно-абсорбционные методы определения требуют отдельной стадии пробоподготовки. Наиболее перспективными представляются методики, реализующие достаточно надежные жидкостные варианты определения, в том числе, пригодные для контроля содержания меди и железа в винодельческой продукции [293].

2.3.2 Обоснование условий электрофоретического определения катионов в винодельческой продукции

Как показали наши исследования, для определения вышеперечисленных катионов в винодельческой продукции может быть применена известная методика НПФ «Люмэкс» по определению массовой концентрации катионов щелочных и щелочноземельных металлов в воде [237]. Использовали систему капиллярного электрофореза серии «Капель» оборудованную УФ-детектором (254 нм) и кварцевый капилляр длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м. Детектирование катионов осуществляли косвенным методом. Калибровочные растворы готовили на дистиллированной воде из ГСО катионов аммония, калия, натрия, магния, кальция концентрацией 1, 10, 20, 50, 100 мг/дм³. Результаты измерения наблюдаемой подвижности катионов в

зависимости от состава электролита при положительном напряжении 16 кВ показаны на рисунке 2. Проведенные исследования подвижности катионов показали, что использование электролитов № 3 и 4 не позволяло избежать явления наложения пиков при анализе реальных объектов, электролит № 1 не обеспечил экспрессность анализа и оказался склонным к образованию осадков ввиду значительных концентраций составляющих.



№ 1 – бензимидазола 30 ммоль/дм³; 18-краунэфира-6 – 15 ммоль/дм³ и винной кислоты – 35 ммоль/дм³, смешанные в соотношении 3:2:1;
 № 2 – бензимидазола 20 ммоль/дм³; 18-краунэфира-6 – 10 ммоль/дм³ и винной кислоты – 25 ммоль/дм³, смешанные в соотношении 3:2:1;
 № 3 – бензимидазола 15 ммоль/дм³; 18-краунэфира-6 – 7 ммоль/дм³ и винной кислоты – 15 ммоль/дм³, смешанные в соотношении 3:2:1;
 № 4 – бензимидазола 10 ммоль/дм³; 18-краунэфира-6 – 5 ммоль/дм³ и винной кислоты – 12 ммоль/дм³, смешанные в соотношении 3:2:1

Рисунок 2 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) катионов в зависимости от состава электролита

В дальнейшем для выполнения измерений проб вина использован электролит № 2, обеспечивший экспрессность анализа и эффективность от помех

органических катионов реальных проб, срок хранения не более 3-х суток при комнатной температуре (пояснительная надпись рисунка 2).

Перед каждым измерением капилляр в течение двух минут последовательно промывали 1Н соляной кислотой, дистиллированной водой, 1Н гидроксидом натрия и дистиллированной водой. После этого капилляр промывали рабочим электролитом в течение 2 мин.

Пробоподготовку осуществляли следующим образом: пробу вина разбавляли в 10 раз, центрифугировали 3–5 минут при 6000об^{-1} , переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 5 с. Устанавливали время анализа 10 минут, положительное напряжение 16 кВ, при этом должен установиться ток 16 ± 1 мкА. Ориентировочное время выхода в минутах катионов: аммония – 4, калия – 4,8, натрия – 5,5, магния – 7,0, кальция – 8,0.

Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации катионов, например, кальция, наблюдаемая в интервале концентраций 1–100 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программному обеспечению ПК:

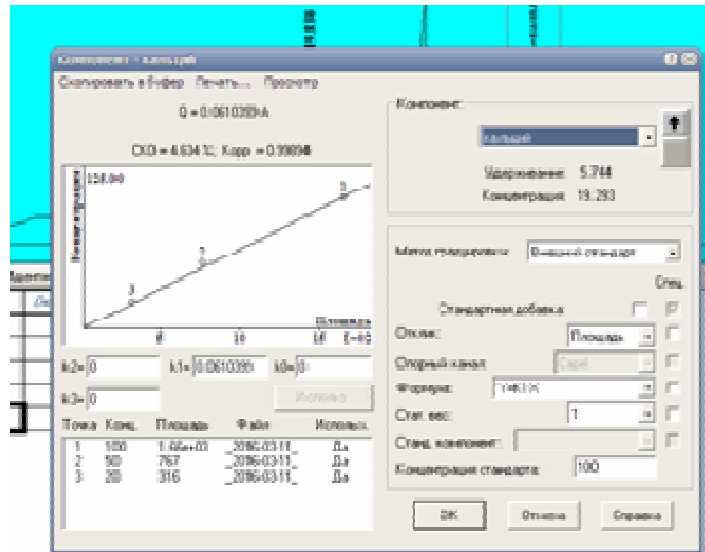
$$Y=1,18789 X \quad (1)$$

где Y – отклик, X – концентрация вещества, мг/дм³.

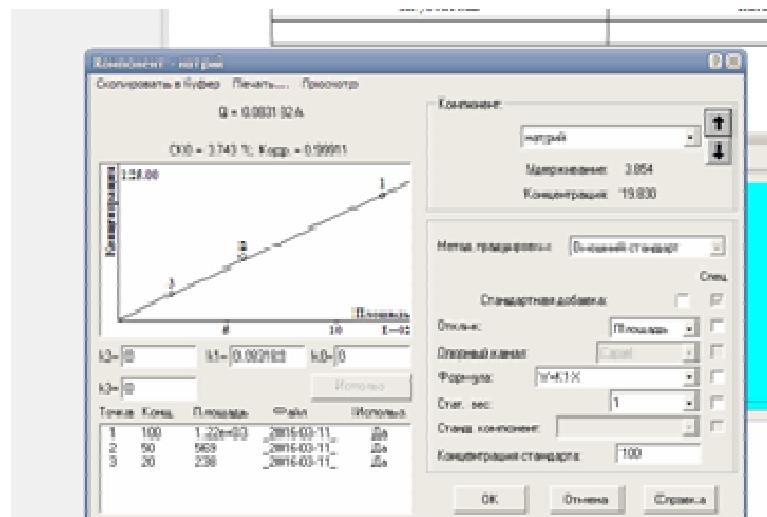
Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который составил, например, 0,99894 для кальция, для натрия – 0,99911, что свидетельствует о возможности выражения данных прямой (рисунок 3).

На электрофореграммах виноградных вин в интервале между пиками катионами натрия и магния, магния и кальция возможно появление пиков катионов лития, стронция и неидентифицированных компонентов, представляющих собой органические катионы, не содержащие ненасыщенных связей – этаноламины, аминоспирты (рисунки 4–5). После пика катиона кальция наблюдается выход суммарного пика свободных аминокислот и красящих

веществ вина. В результате исследований установлена правильность и воспроизводимость определения концентраций катионов (таблица 16).

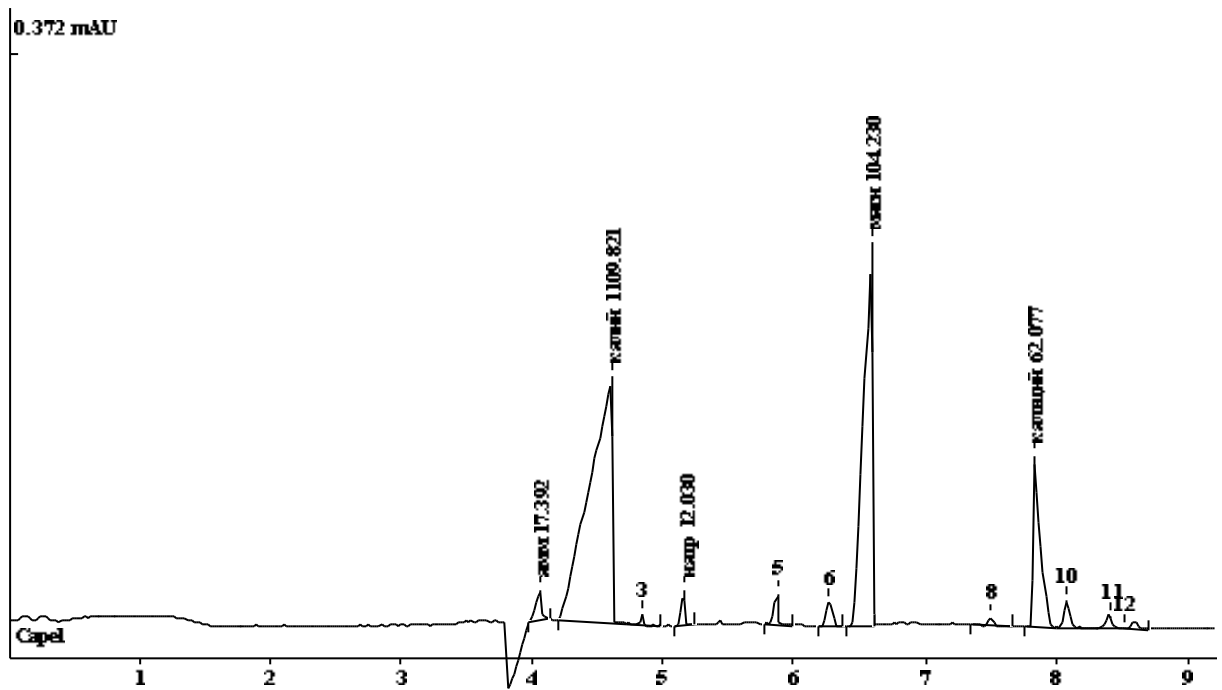


А



Б

Рисунок 3 – Градуировочная характеристика аммония (А) и натрия (Б)



электролит, ммоль/дм³: смесь бензимидазола – 20;
18-краунэфира-6 – 10, винной кислоты – 25 в соотношении 3:2:1,
и положительном напряжении 16 кВ

Рисунок 4 – Электрофореграмма катионов красного виноградного вина «Портвейн Красная Гроздь», получена при косвенном детектировании аналита

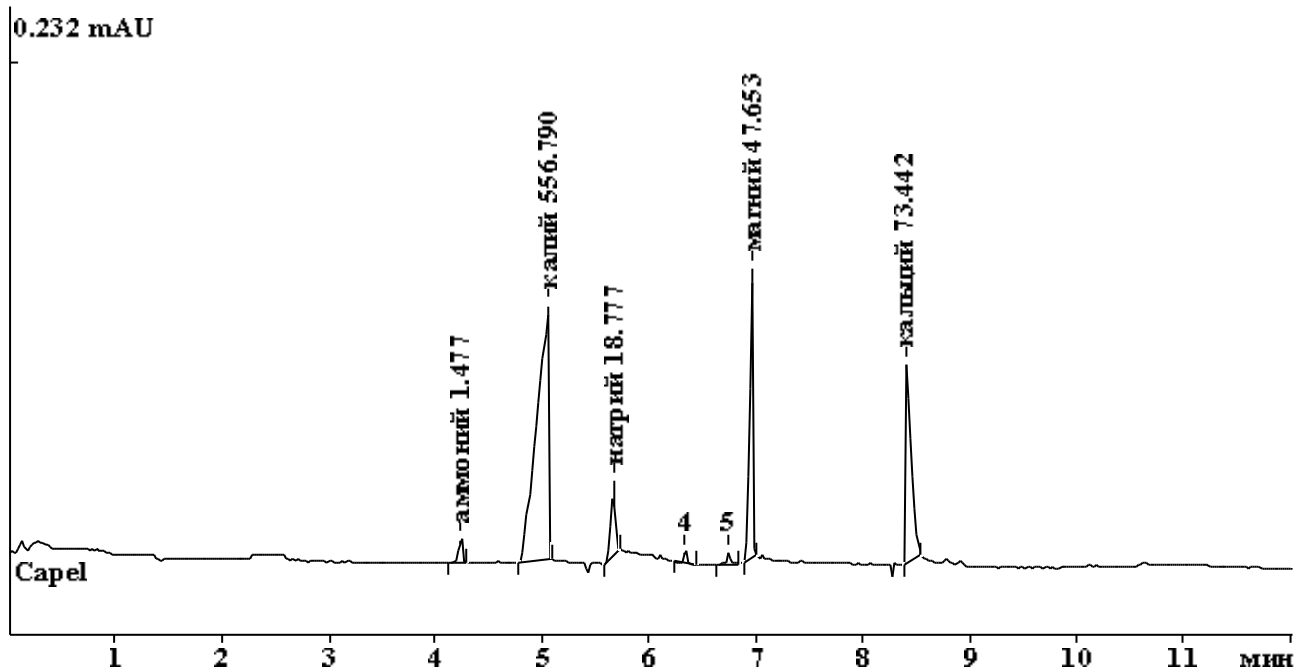


Рисунок 5 – Электрофореграмма катионов белого виноградного вина «Портвейн Анапа», условия определения аналогичны рисунку 4

Таблица 16 – Проверка правильности и воспроизводимости результатов определения катионов металлов ($n = 5$, $\alpha = 0,05$)

Компонент	Введено, мг/дм ³	Найдено, мг/дм ³	S _p , %
Аммоний	10	9,8±0,4	2,8
	50	49,5±1,3	1,8
Калий	10	9,9±0,5	3,5
	50	49,6±1,5	2,1
Натрий	10	9,7±0,3	2,1
	50	49,8±0,9	1,2
Магний	10	9,8±0,3	2,1
	50	49,6±1,0	1,4
Кальций	10	9,8±0,4	2,8
	50	49,8±1,2	1,7

Выполненные исследования свидетельствуют о необходимости осуществления текущего контроля массовых концентраций указанных катионов и дополнительной оценке правильности решения о виноградном происхождении напитка. По результатам проведенных исследований разработана, метрологически аттестована и внедрена методика выполнения измерений массовой концентрации калия, натрия, магния, кальция в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза (Приложение А-2).

2.3.3 Разработка методики электрофоретического определения аммонийного азота

Азот входит в состав белков, пептидов, нуклеиновых кислот, хлорофилла, ферментов, аминов и других органических соединений, которые играют исключительно важную роль в обменных процессах растений и организмах животных. Как правило, определение общего азота основано на

окислении органических форм, содержащих азот, и последующего его детектирования в виде соединений аммония. Для анализа применяют многочисленные модификации химических методов определения азота по Кьельдалю и Дюма, азотные анализаторы, хроматографические, спектрофотометрические и другие методы [294].

Содержание катиона аммония в винах свидетельствует об интенсивности процессов дезаминирования аминокислот, процессах деградации азотистых веществ, и косвенно о качестве виноградного вина. С другой стороны важное технологическое значение для винодела имеет знание содержания общего азота [33].

Корректность подготовки пробы вина имеет решающее влияние на конечный результат определения общего азота одним из принятых методов. Наибольшие искажения на итоговые результаты определения общего азота вносит определенная летучесть всех его производных форм, что и приводит к разногласию получаемых результатов и к ощутимой неопределенности анализа. Влияние на ход и погрешности определения азота могут оказывать используемые реактивы, например, серная, хлорная кислоты, перекись водорода и т.д. В этой связи, с учетом литературных данных, пробоподготовку вина для определения общего азота осуществляли с применением методов термического окисления, СВЧ-разложения, а также их сочетанием [295].

Пробоподготовка вина для определения общего азота с применением метода термического окисления.

При реализации термического разложения пробу вина помещали в стакан объемом 50 см³, добавляли 10 см³ концентрированной хлорной кислоты, переносили в выпяжной шкаф и медленно нагревали на плитке до кипения смеси, не допуская вспенивания и разбрызгивания. Процесс кипячения вели до полного растворения пробы и прекращения активного выделения газов. После этого нагрев прекращали и пробу охлаждали в естественных условиях. В

данных условиях термического кислотного разложения все формы соединений азота в биологических объектах разрушаются и переходят под действием хлорной кислоты в аммонийную форму. Содержимое стакана после термического кислотного разложения количественно переносили в мерную колбу объемом 25 см³ и доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали, отбирали 5 см³ и переносили в чашку для выпаривания до состояния влажных солей. Затем добавляли 5 см³ дистиллированной воды, растворяли пробу, фильтровали, центрифугировали и переносили для анализа в систему капиллярного электрофореза.

Пробоподготовка вина для определения общего азота с применением метода СВЧ-разложения.

СВЧ-разложение пробы вина осуществляли с использованием минерализатора Минотавр. Предварительно 1 см³ вина помещали в пластиковые пробирки с завинчивающимися крышками, вносили 5 см³ концентрированной хлорной кислоты, закрывали крышкой и оставляли для разложения при комнатной температуре на 12–24 часа. Затем содержимое переносили количественно в контейнер СВЧ-минерализатора, добавляли 20 см³ 10%-ной уксусной кислоты и проводили «разложение без давления» в течение 10 минут. По завершении включали режим разложения под давлением в течение 1 минуты. Через 2–3 минуты после окончания процесса извлекали контейнер из минерализатора, используя стеклянный фильтр, содержимое переносили в мерную колбу на 25 см³ и доводили до метки дистиллированной водой. Полученную таким образом пробу использовали для выполнения анализа на системах КЭ.

Результаты оптимизации процесса подготовки пробы для определения общего азота приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты сравнительных испытаний определения общего азота по методу Дюма в зависимости от способа минерализации, мг/дм³

Способ минерализации пробы	Вино ликерного типа	Красное сухое вино	Белое сухое вино	Длительность процесса
Термическое разложение в присутствии кипящей уксусной кислоты с добавкой перекиси водорода (2:1)	31	35	21	8 час
Термическое разложение в присутствии хлорной кислоты	90	49	37	10 час
Термическое разложение в едком натрии	44	40	27	6 час
СВЧ-обработка в хлорной кислоте под давлением 10 мин	60	60	55	20 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин, далее выпаривание до состояния влажных солей	200	77	68	45 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте под давлением 10 мин, добавка надуксусной кислоты, разложение без давления 10 мин	350	88	98	45 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин (контроль давления), далее выпаривание до состояния влажных солей	36	34	11	30 мин
СВЧ-обработка в муравьиной кислоте, смешанной с перекисью водорода (2:1), без давления 10 мин, затем под давлением 2 мин, последующее выпаривание до состояния влажных солей	354	291	102	30 мин
СВЧ-обработка в фосфорной кислоте смешанной с перекисью водорода (2:1), без давления 10 мин, затем под давлением 2 мин, последующее выпаривание до состояния влажных солей	342	307	111	60 мин

Качество процесса минерализации контролировали, определяя концентрацию общего азота общепринятым способом [294]. В результате установлено, что контрольное содержание общего азота на основе сравнительных испытаний составило для ликерного вина – 330 мг/дм³, красного сухого – 300 мг/дм³, белого сухого – 108 мг/дм³.

Данные таблицы 17 показывают, что при СВЧ-обработке в режиме выпаривания не достигается количественного окисления соединений азота без потерь (50%). Существенного изменения не происходит также при использовании смеси уксусной или муравьиной кислот с перекисью водорода (40%). Сочетание различных видов обработки пробы СВЧ-полем с последующим выпариванием растворителей и окислителя позволяет достичь надежных результатов при переводе производных азота в аммонийную форму. Сравнительные эксперименты позволили обеспечить получение результатов, сравнимых с классическими методами термической минерализации растительных проб для определения общего азота в присутствии кипящей серной кислоты.

В результате оптимизации полученных данных разработан следующий способ минерализации: 1 см³ вина помещали в стакан объемом 50 см³, добавляли 10 см³ смеси 2:1 30%-ной перекиси водорода и концентрированной уксусной кислоты (надуксусную кислоту), переносили в вытяжной шкаф и медленно нагревали на плитке до кипения смеси, не допуская вспенивания и разбрызгивания. Процесс вели до прекращения разложения перекиси водорода. После этого нагрев останавливали и пробу охлаждали в естественных условиях, количественно переносили в контейнер СВЧ-минерализатора, добавляли 5 см³ хлорной кислоты и проводили окислительное разложение пробы в режиме под давлением, после этого охлаждали. Затем содержимое контейнера количественно переносили в мерную колбу емкостью 50 см³ и доводили дистиллированной водой до метки. В данных условиях разложения все формы соединений азота разрушаются и переходят в аммоний. Отбирают аликвоту для анализа, при необходимости регулируют кислотность среды 0,1Н натриевой щелочью

до слабокислой (рН 4,5–5,5) и выполняют анализ. Результаты оптимизации процесса пробоподготовки для определения общего азота приведены в таблице 18. Качество процесса минерализации контролировали, определяя концентрацию общего азота общепринятым способом.

Таблица 18 – Сравнительные результаты испытаний способа минерализации, мг/дм³

Способ минерализации пробы	Ликерное вино	Красное сухое вино	Белое сухое вино	Длительность процесса
Термическое разложение в присутствии кипящей уксусной кислоты с добавкой перекиси водорода (2:1) с последующей СВЧ-обработкой под давлением	175	102	38	35 мин
Термическое разложение в присутствии кипящей уксусной кислоты с добавкой перекиси водорода (2:1) с последующей СВЧ-обработкой под давлением, далее выпаривание до состояния влажных солей	147	118	34	50 мин
Термическое разложение в присутствии кипящей уксусной кислоты с добавкой перекиси водорода (2:1), далее СВЧ-обработка с добавкой хлорной кислоты под давлением 10 мин, выпаривание до состояния влажных солей	341	367	119	60 мин

Данные таблицы 18 показали, что СВЧ-обработка без давления, даже при выпаривании не позволяет произвести количественное окисление соединений азота без потерь в реальных пробах. Не оказало существенного влияния на этот процесс применение уксусной кислоты в смеси с перекисью водорода. Сочетание различных видов обработки пробы полем СВЧ с последующим выпариванием обеспечило надежные результаты окисления производных азота в аммонийную форму. Полученные результаты сравнимы с результатами классического метода термической

минерализации для определения общего азота в присутствии кипящей серной кислоты.

2.3.4 Обоснование условий электрофоретического определения аммонийного азота

При разработке аналитического решения на основе известных литературных данных и разработок [237, 292, 296] предположены для реализации КЭ-методики следующие составляющие ведущего электролита: никотиновая кислота, бензимидазол, хромат-ион, сорбиновая кислота (обеспечение регистрации компонентов), уротропин, трилон Б, сульфат натрия, 18-краун-эфир-б, – модификаторы электролита, обеспечивающие разделение компонентов.

Первый этап поиска состава ведущего электролита для определения аммония на основе бензимидазола, 18-краун-эфир-б, трилона Б учитывал различные дозировки реактивов, для уменьшения ионной силы растворов и увеличения скорости миграции компонентов — варьировали концентрацией трилона Б (таблица 19).

Данные таблицы 19 показали, что улучшить разделение аммонийной формы и повысить общую чувствительность метода не удастся за счет увеличения концентрации трилона Б, бензимидазола. На рисунке 6 показана расчетная подвижность аммония, объясняющая нестабильность анализа полученных электрофореграмм.

Таблица 19 – Модификация состава ведущего электролита в системе бензимидазол, 18-краун-эфир-6, трилон Б

Порядковый номер состава	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация полученного результата
	бензимидазол, 10 мМ, см ³	18-краун-эфир-6, см ³	трилон Б, см ³	
1	2	1	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9192, предел обнаружения 4 мг/дм ³
2	2	1,2	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9122, предел обнаружения 7 мг/дм ³
3	3	1	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9091, предел обнаружения 5 мг/дм ³
4	3	1,3	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9071, предел обнаружения 6 мг/дм ³
5	4	1	0,3	Размах шума 4%, Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,8162, предел обнаружения 9 мг/дм ³
6	2	1	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9392, предел обнаружения 3 мг/дм ³
7	3	2	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9371, предел обнаружения 2 мг/дм ³
8	3	2	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9277, предел обнаружения 3 мг/дм ³

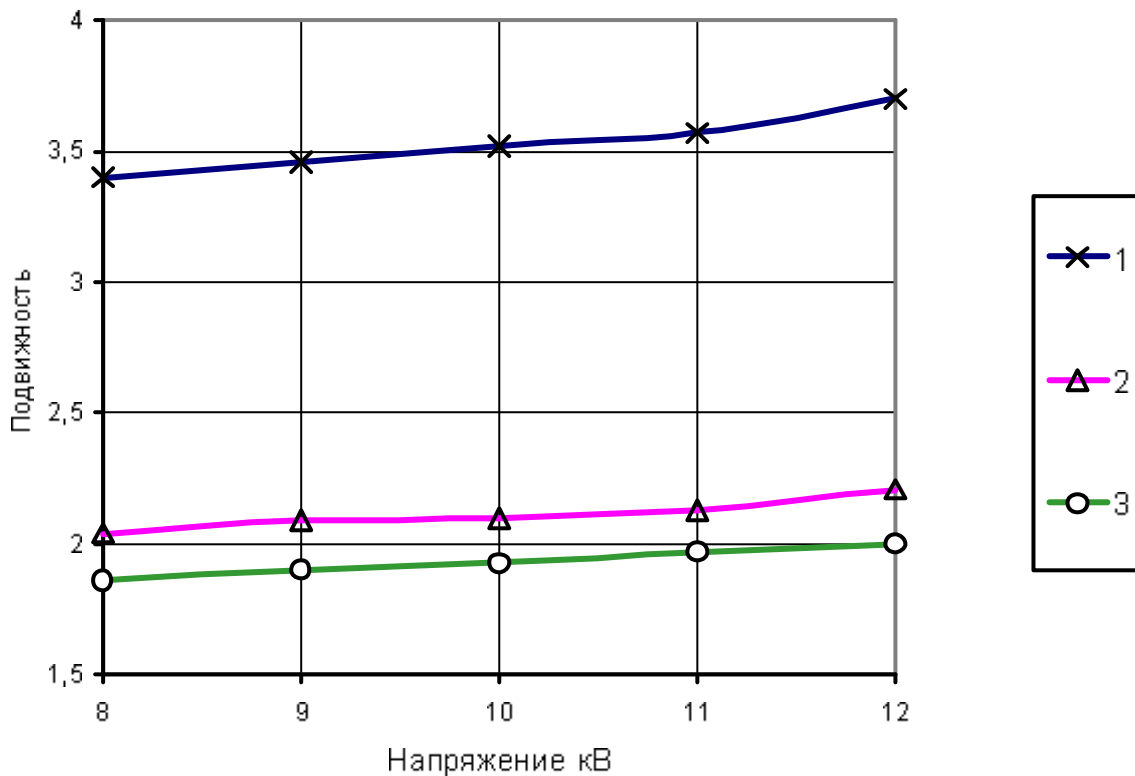


Рисунок 6 – Подвижность аммония, для вариантов электролита из таблицы 19, положительное напряжение 14кВ, ($\times 10^{-4}$), $\text{см}^2 / (\text{В} \cdot \text{с})$

Отмечена выраженная нелинейность подвижности аммония, что связано с невысокой пригодностью состава электролита для реализации данного вида анализа (рисунок 6). Это в итоге выражалось в смещении времени миграции компонента и симметрии самого пика. В результате повышения ионной силы ведущего электролита за счет трилона Б увеличивалось время анализа, что приводило к резкому росту тока, приближаясь к максимально допустимому на приборе. Варьирование соотношения бензимидазол – 18-краунэфир-6 также не привело к положительным результатам. Проведенные эксперименты позволили установить необходимость тщательной промывки капилляра перед каждым анализом пробы. Примеры электрофореграмм показаны на рисунках 7 и 8. Этап поиска состава ведущего электролита с использованием сульфата натрия, обеспечивающий определенную ионную силу и подавление влияния ионного состава матрицы пробы, показан в таблице 20.

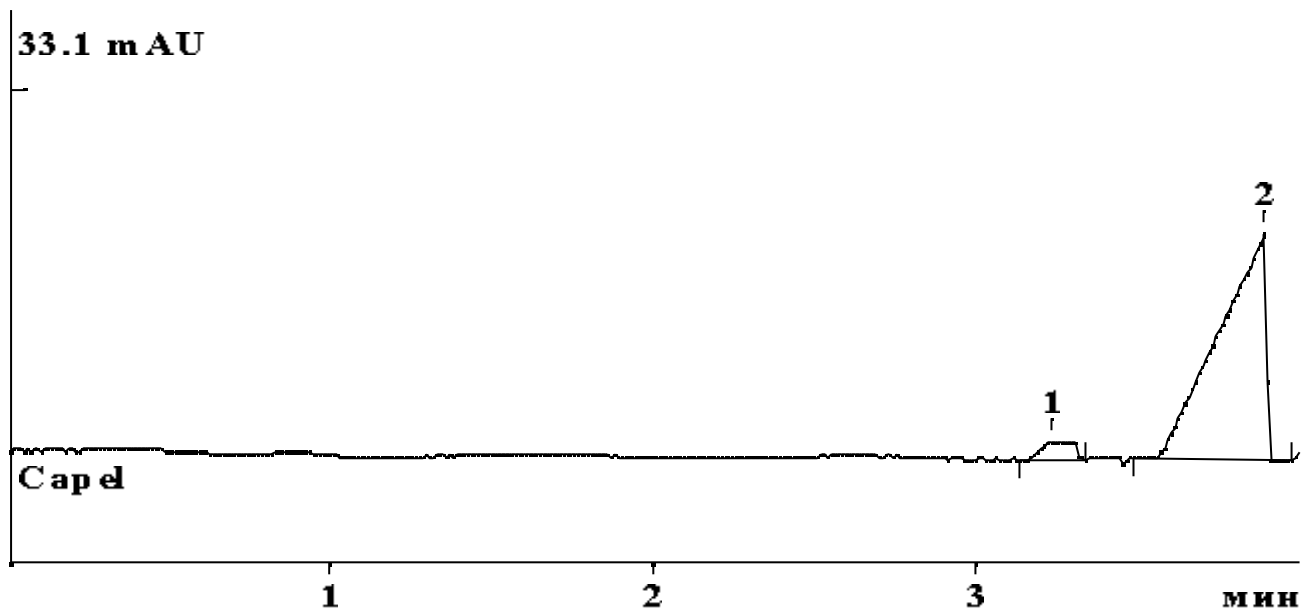


Рисунок 7 – Электрофореграмма стандартного раствора аммония, электролит № 5 из таблицы 19, положительное напряжение 14 кВ, пик 1 – аммоний, искажен

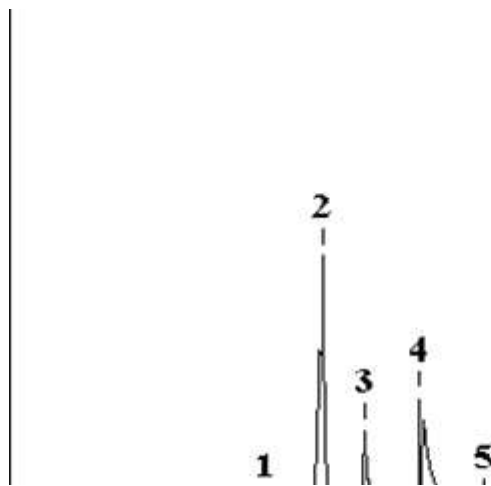


Рисунок 8 – Электрофореграмма стандартного раствора аммония, электролит № 7 из таблицы 19, положительное напряжение 14 кВ, пик 1 – аммоний, искажен

Использованы различные дозировки сульфата натрия, бензимидазола, 18-краун-эфир-6 для изменения ионной силы растворов электролита, улучшения условий разделения аммония от компонентов щелочного характера.

Таблица 20 – Варианты поиска состава ведущего электролита – бензимидазол, 8-краун-эфир-6, сульфат натрия

Порядковый номер состава	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация полученного результата
	бензимидазол, 0,2362%, см ³	18-краун-эфир-6, 0,264%, см ³	сульфат натрия, 1%, см ³	
1	2	3	4	5
1	2	1	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9361, предел обнаружения 8 мг/дм ³
2	2	1,2	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9267, предел обнаружения 7 мг/дм ³
3	3	1	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9341, предел обнаружения 6 мг/дм ³
4	3	1,3	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9231, предел обнаружения 9 мг/дм ³
5	4	1	0,3	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9065, предел обнаружения 12 мг/дм ³
6	2	1	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9067, предел обнаружения 9 мг/дм ³

1	2	3	4	5
7	3	2	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9621, предел обнаружения 3 мг/дм ³
8	3	2	0,2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,99994, предел обнаружения 1 мг/дм ³

Изменение подвижности аммония в зависимости от состава электролита показано на рисунке 9. Пример электрофореграммы в условиях электролита № 7 из таблицы 20 показан на рисунке 10, для электролита № 2 – рисунок 11. В ходе эксперимента изменяли температуру капилляра, что не привело к улучшению параметров разделения.

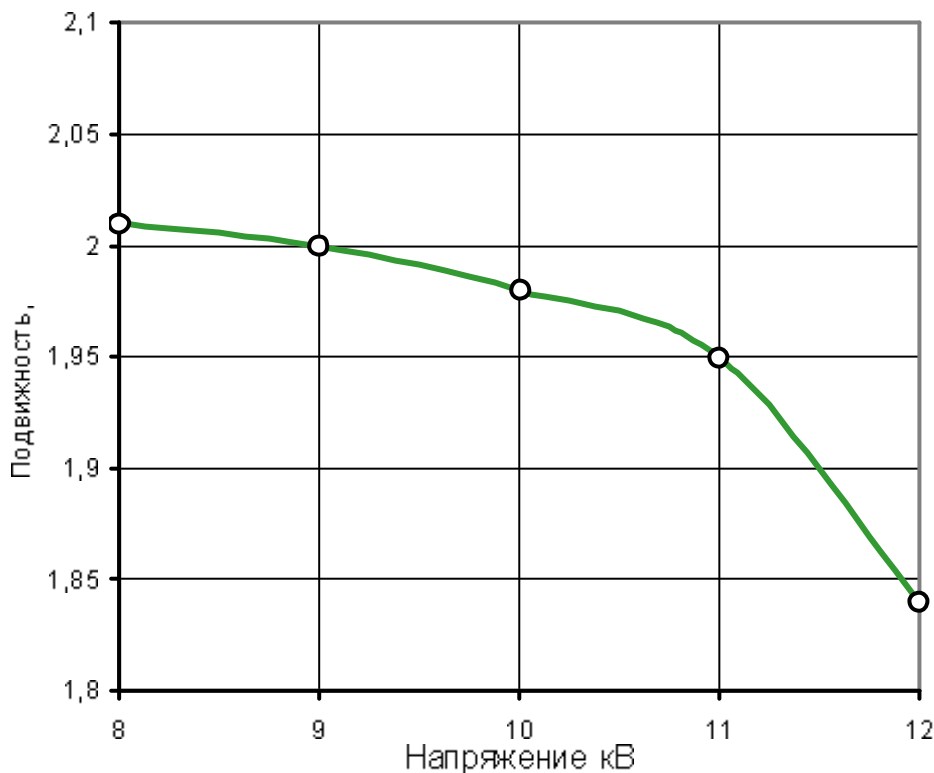


Рисунок 9 – Наблюдаемая подвижность катиона аммония ($\times 10^{-4}$), см²/(В · с), для вариантов электролита из таблицы 20, положительное напряжение 14 кВ

Отмечена выраженная динамика линейности подвижности аммония, что связано с правильным выбором состава электролита для реализации данного вида анализа (рисунок 9).

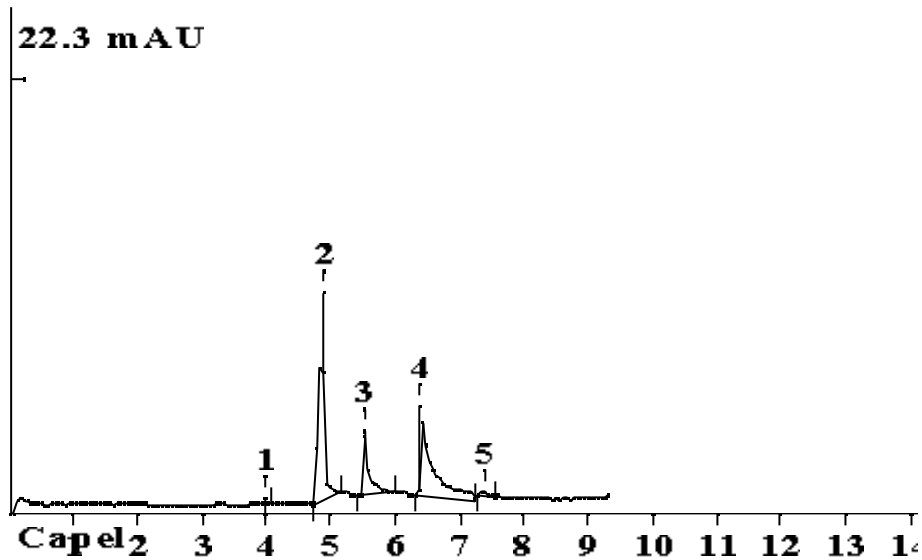


Рисунок 10 – Электрофореграмма стандартного раствора аммония, электролит № 4 из таблицы 20, положительное напряжение 14 кВ, пик 2 – аммоний



Рисунок 11 – Электрофореграмма стандартного раствора аммония, электролит № 8 из таблицы 20, положительное напряжение 14 кВ, пик 2 – аммоний

В результате управления ионной силой ведущего электролита за счет введения сульфата натрия удалось уменьшить время анализа, стабилизировать ток и добиться положительного результата на электролите 0,236% раствора бензимидазола, для чего:

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают навеску 0,236 г бензимидазола и приблизительно 50 см³ воды. Раствор выдерживают на водяной бане до полного растворения, затем доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Срок хранения раствора при комнатной температуре – 3 месяца.

1% раствор сульфата натрия, для чего:

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают навеску 1,00 г безводного сульфата натрия, растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора в холодильнике при 4–6°С – 3 месяца.

0,264 % раствор 18-крауна-6, для чего:

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают навеску 0,132 г 18-крауна-6, растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора в сосуде из полиэтилена в холодильнике при 4–6°С – 3 месяца.

Приготовление ведущего электролита для определения катиона аммония: в высушенный стеклянный сосуд с завинчивающейся крышкой помещают 3 см³ 0,236% раствора бензимидазола, 0,1 см³ 1% раствора сульфата натрия и 2 см³ 0,264% раствора 18-краун-эфира-6, тщательно перемешивают.

Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации аммония, наблюдаемая в интервале концентраций 1–100 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программному обеспечению ПК:

$$Y=1,18873 X \quad (2)$$

где Y – отклик, X – концентрация аммония, мг/дм³.

Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который составил 0,99994, что свидетельствует о возможности выражения данных прямой.

Предлагаемая методика обеспечивает экспрессность и достоверность количественного определения общего азота методом КЭ с использованием коэффициента пересчета на общий азот – 0,778; предусматривает термическое кислотное разложение пробы вина, позволяющее обеспечить переход соединений азота в ион аммония, кратное разбавление пробы до содержания аммонийного азота не более 1000 мг/дм³. Для определения аммонийного азота используют водный раствор ведущего электролита, содержащий 0,3% бензимидазола, 0,25% 18-краун-эфир-6, 0,02% сульфата натрия при положительной полярности напряжения и длине волны детектирования – 254 нм. Электрофореграмма образца сухого белого виноградного вина Алиготе без проведения разложения показана на рисунке 12, после разложения – на рисунке 13.

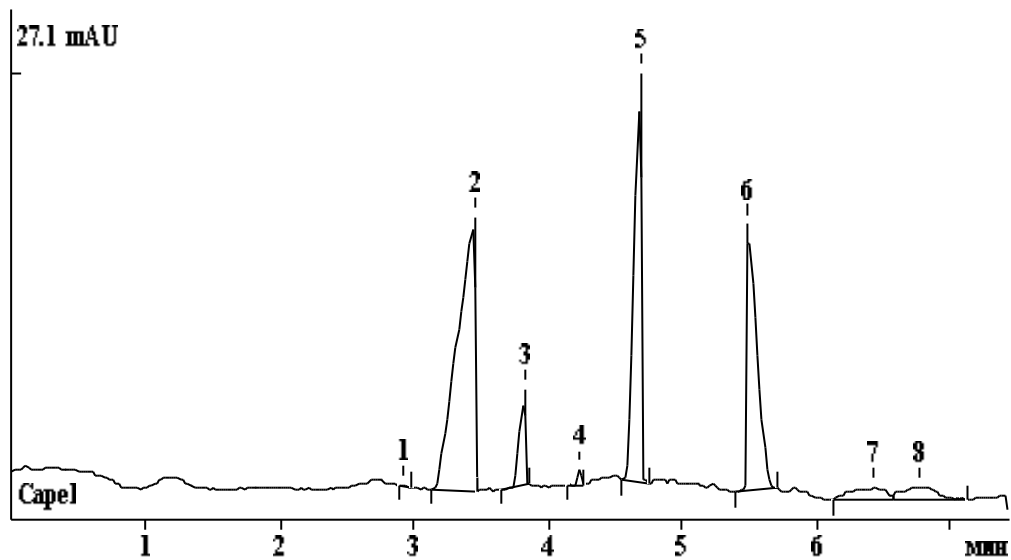


Рисунок 12 – Электрофореграмма сухого белого вина Алиготе без разложения
(1 – NH^{4+} , концентрация 0,3 мг/дм³, разбавление образца в 5 раз)

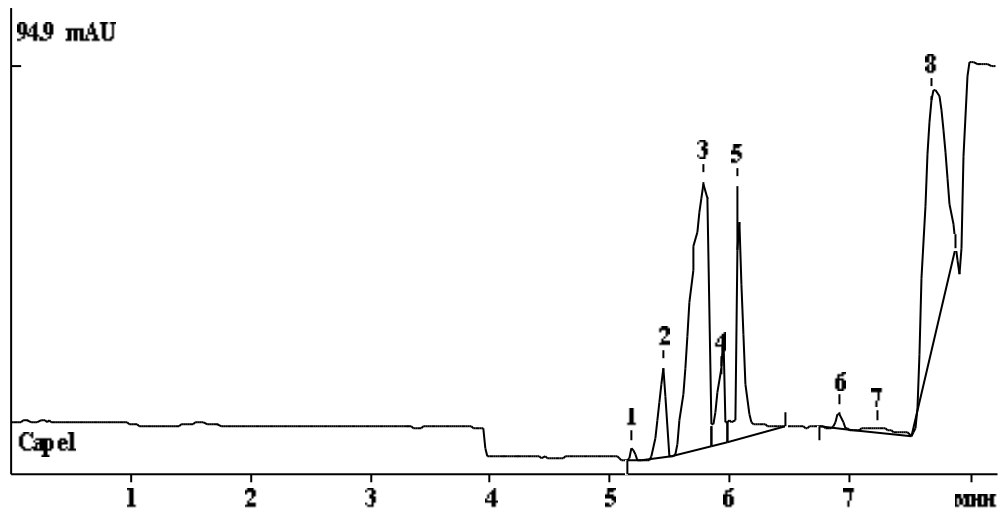


Рисунок 13 – Электрофореграмма сухого белого вина Алиоте после разложения (1 – NH_4^+ , концентрация 238 мг/дм^3 , разбавление образца в 10 раз)

Полученные данные согласуются с результатами определения общего азота другими методиками и подтверждают возможность количественного определения общего азота в вине, согласно предложенной процедуре. Различие времени миграции иона аммония на рисунках 12 и 13 связано с изменением значения pH образца вина после проведения деструкции.

2.4 Электрофоретическое определение основных неорганических ионов хлорида, сульфата, нитрата, нитрита

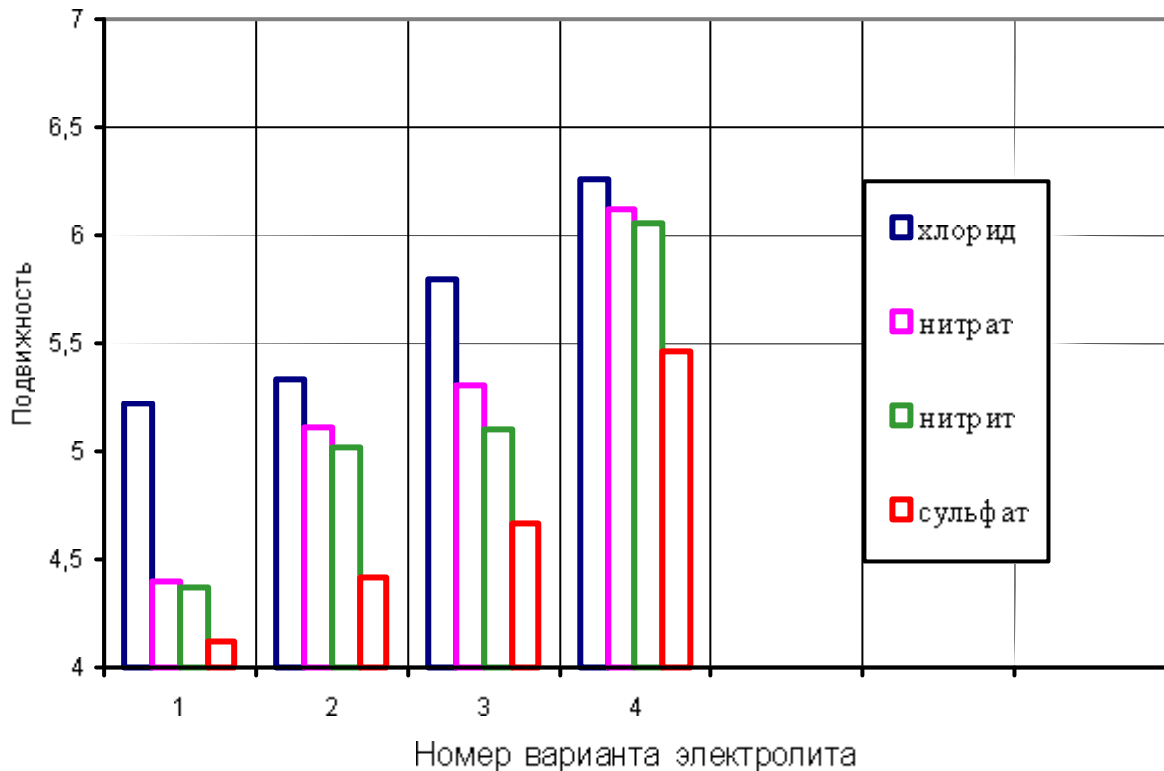
Вино содержит неорганические анионы естественного и технологического происхождения, в основном – это хлориды и сульфаты, причем концентрация последних постепенно повышается за счет окисления сульфит-иона, в меньшей степени это относится к нитратному азоту [21]. Источником сульфит-иона является сернистый ангидрид, широко применяемый консервант виноделия в дозировках до 200 мг/дм^3 . 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. Вследствие ненормированного использования удобрений, подкормок виноградной лозы и последующего 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 [14], известно применение для этих целей методик КЭ, внедренных для анализа природных, минеральных и промышленных вод [237, 296]. Особенность определения этих анионов в натуральных виноградных винах состоит в том, что концентрации нитрита и нитрата ($1-10 \text{ мг/дм}^3$) приходится измерять на фоне значительного содержания хлорида (до 100 мг/дм^3) и сульфата (до 400 мг/дм^3). При прямых электрофоретических измерениях по существующим методикам, например, для анализа питьевой воды [296], происходит наложение пиков анионов, что фактически требует (ввиду значительной разницы в концентрациях) выполнения нескольких последовательных определений на разных электролитах. Для электрофоретического определения вышеперечисленных анионов требуется оптимизация метода измерения, которая позволит на одном составе ведущего электролита выполнить определение существенно различающихся концентраций исследуемых анионов в пробе вина [297, 298].

Для проведения анализов использовали систему капиллярного электрофореза серии «Капель», оборудованную ультрафиолетовым детектором (254 нм), и кварцевый капилляр длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м. Детектирование анионов осуществляли косвенным методом.

Установление состава электролита. Калибровочные растворы 10, 50, 100 и 500 мг/дм^3 готовили на 16 (или 10) %-ном водном растворе этилового ректифицированного спирта, используя ГСО соответствующих анионов. Перед каждым измерением капилляр в течение двух минут последовательно промывали

1Н соляной кислотой, дистиллированной водой, 1Н гидроокисью натрия и дистиллированной водой. После этого капилляр промывали электролитом в течение 2 минут. Режим промывки капилляра изменяли в зависимости от степени его загрязнения. Результаты оптимизации рН электролита, используемого для разделения модельной смеси, показаны на рисунке 14.



отрицательное напряжение 8кВ;

бихромат калия – гексаметилендиамин – № 1 по 5 ммоль/дм³;
 № 2 – по 7 ммоль/дм³; № 3 – по 10 ммоль/дм³; № 4 – по 12 ммоль/дм³,
 в соотношении 1:1

Рисунок 14 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) изучаемых анионов, в зависимости от состава электролита

Проведенные исследования позволили предложить оптимальный состав электролита для разделения модельной смеси:

Раствор бихромата калия концентрацией 0,296% (10 мМ): 74 мг бихромата калия вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³

дистиллированной воды, далее растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Раствор гексаметилендиамина концентрацией 0,115% (10 мМ): 46 мг гексаметилендиамина вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Рабочий электролит (концентрация каждого компонента 5 мМ) готовили следующим образом: смешивали полученные растворы 10 мМ бихромата калия и 10 мМ гексаметилендиамина в соотношении 1:1, в объеме, достаточном для проведения измерений в течение одного рабочего дня. Помещали полученный электролит в пробирки Эпендорфа по 0,8 см³ и центрифугировали 4 минуты при 6000 об⁻¹. Устанавливали следующий режим анализа на приборе: отрицательное напряжение 15 кВ, дозирование пробы 30 мБар-5 сек, время анализа 15 мин. На одной порции электролита выполняли 8–10 анализов (суммарно 150 минут работы), затем заменяли новой порцией. Исходные растворы бихромата калия и гексаметилендиамина хранят при комнатной температуре не более 30 суток с момента приготовления.

Отрицательное напряжение для разделения модельной смеси, охарактеризованное наблюдаемой подвижностью анионов, составило 8 кВ. Подбор напряжения для выполнения определения при установленном составе электролита позволил регулировать длительность анализа и в то же время обеспечил необходимое качество разделения. Как видно на рисунке 14, для разделения указанной смеси принципиальное значение имеет состав электролита. Ориентировочное время выхода (мин) анионов для оптимизированного электролита и отрицательного напряжения 8 кВ: хлорида – 10,9, нитрата – 11,8, нитрита – 12,3, сульфата – 13,4. Число теоретических тарелок для каждого компонента достигало 75–120 тысяч. Электрофореграмма градуировочной смеси анионов представлена на рисунке 15.

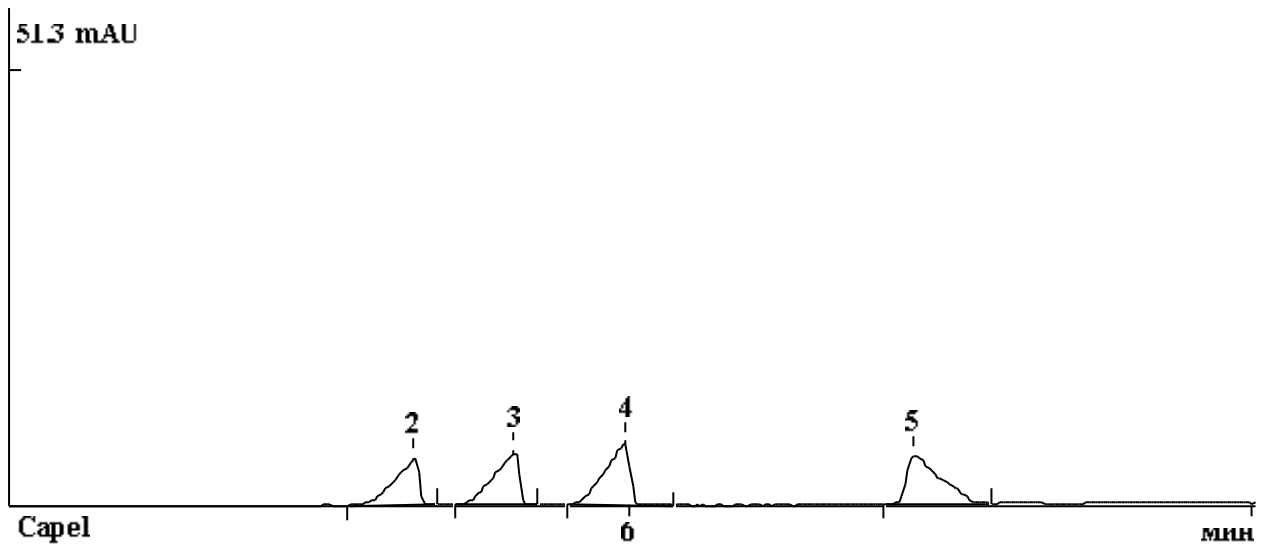


Рисунок 15 – Электрофореграмма градуировочной смеси анионов в оптимальных условиях анализа (рН электролита – 10,2, отрицательное напряжение 8 кВ)

Коэффициенты чувствительности относительно хлорида (1,0) составили для нитрата 2,0; нитрита – 2,1, сульфата – 1,5. В связи с этим порог чувствительности по нитрату и нитриту составил $0,5 \text{ мг/дм}^3$, для хлорида и сульфата – $0,2 \text{ мг/дм}^3$. Линейность сохранялась до 500 мг/дм^3 включительно. Электрофоретическая подвижность анионов составила ($10^{-4} \text{ см}^2 \text{V}^{-1} \text{ s}^{-1}$): 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. Идентификацию анионов проводили по времени удерживания и методом добавки.

В оптимизированных условиях анализа проведено исследование вина и виноматериала по схеме: пробу разбавляли в 2 раза дистиллированной водой, центрифугировали 3–5 минут при 6000 об^{-1} , переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мбар в течение 5 сек. Устанавливали время анализа 20 мин, отрицательное напряжение 8 кВ, сила тока составляла $40 \pm 3 \text{ мкА}$. Определению не мешают другие ионные соединения вина. Анализируемую пробу дозируют не менее двух раз и регистрируют электрофореграммы для каждого ввода.

Смесь анионов концентрацией 10, 50, 100 и 500 мг/дм³ отбирали мерной пипеткой в количестве 0,8 см³ в пробирку Эппендорфа и центрифугировали 4 минуты при 6000 об⁻¹. Пневматическим способом дозировали пробу в капилляр при 30 мБар в течение 5 сек. Анионы регистрировали компьютером в виде характерного для данного режима анализа пиками различной интенсивности в трех повторах. На основе полученных данных строили градуировочные графики, используя программное обеспечение. В случае изменения времени выхода анионов в пробе вина применяют метод добавки вещества.

Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации анионов, наблюдаемая в интервале концентраций 1–1000 мг/дм³, например, хлорида, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программному обеспечению ПК. Полученное уравнение имеет вид:

$$Y=1,18766 X \quad (3)$$

где Y – отклик, X – концентрация хлорида, мг/дм³

Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который составил 0,99992, что свидетельствует о возможности описания данных прямой (рисунок 16). Установлена правильность и воспроизводимость определения концентраций анионов (таблица 21).

Таблица 21 – Проверка правильности и воспроизводимости результатов определения анионов ($n = 5$, $\alpha = 0,05$)

Анион	Введено	Найдено, мг/дм ³	S_x , %
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

2.4.1 Разработка электрофотетической методики определения общего фосфора в пробах вина

Подготовка сложной биологической пробы оказывает решающее влияние на конечный результат определения фосфора любым приемлемым методом. Наибольшие искажения при определении фосфора вносят реактивы, например, перекись водорода эффективный реагент, однако содержит определенное количество фосфата, и не пригодна для кислотного разложения – предполагается концентрирование пробы за счет выпаривания реактивов [299].

Пробоподготовка для определения общего фосфора термическим окислением и СВЧ-разложением. При реализации термического разложения 1 см³ вина помещали в стакан объемом 50 см³, добавляли 10 см³ 30%-ной азотной кислоты, переносили в вытяжной шкаф и медленно нагревали на плитке до кипения смеси, не допуская вспенивания и разбрызгивания. Процесс кипячения вели до прекращения активного выделения окислов азота. После этого нагрев прекращали и пробу охлаждали в естественных условиях – все формы соединений фосфора разрушаются и переходят под действием азотной кислоты в фосфорную кислоту (фосфат-ион). Содержимое стакана после термического кислотного разложения количественно переносили в мерную колбу объемом 25 см³ и доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали, отбирали 5 см³ и переносили в чашку для выпаривания. Содержимое чашки в вытяжном шкафу выпаривали до состояния влажных солей, добавляли 5 см³ дистиллированной воды, растворяли пробу, фильтровали, центрифугировали и переносили для анализа в систему капиллярного электрофореза.

СВЧ-разложение пробы виноградного вина осуществляли с использованием минерализатора «Минотавр». 1 см³ вина помещали в

пластиковые пробирки с завинчивающимися крышками, вносили 5 см³ концентрированной азотной кислоты, закручивали крышку и оставляли для разложения при комнатной температуре на 12–24 часа. Затем содержимое количественно переносили в контейнер СВЧ-минерализатора, добавляли примерно 20 см³ 1Н азотной кислоты и реализовывали режим «разложение без давления» в течение 10 минут. По завершении включали режим «разложение под давлением» в течение 1 мин. Через 2–3 мин после окончания процесса извлекали контейнер из минерализатора, содержимое через бумажный фильтр переливали в мерную колбу объемом 25 см³ и доводили до метки 1Н азотной кислотой. В этом случае разбавление составляло 25. Результаты оптимизации процесса пробоподготовки для определения общего фосфора в виде фосфат-иона приведены в таблице 22. Качество проведения минерализации контролировали, определяя концентрацию общего фосфора фотокалориметрическим способом, в результате установлено, что содержание общего фосфора на основе сравнительных испытаний составило для полусладкого вина — 34 мг/кг, сухого вина — 26,5 мг/кг, сока — 47 мг/кг.

Данные таблицы 22 показали, что СВЧ-обработка без давления, даже при выпаривании не позволяет произвести количественное окисление фосфорных соединений в винодельческой продукции. Не оказало существенного влияния на этот процесс и применение хлорной кислоты, как более сильного окислителя. И только комбинация различных видов обработки пробы полем СВЧ с последующим выпариванием смогло обеспечить надежные результаты окисления производных фосфора в фосфат и получить результаты, сравнимые с классическими методами термической минерализации в присутствии кипящей серной кислоты.

Таблица 22 – Сравнительные результаты испытаний способа минерализации

Способ минерализации пробы	Полусладкое вино	Сухое вино	Длительность процесса
Термическое разложение в присутствии кипящей серной кислоты	35	26,4	12 час
Термическое разложение в присутствии хлорной кислоты	32	24,6	10 час
Термическое разложение в азотной кислоте	18	26,8	8 час
СВЧ-обработка в среде азотной кислоты под давлением 10 мин	36	25,7	20 мин
СВЧ-обработка в азотной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин, далее выпаривание до состояния влажных солей	32	26,0	45 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте под давлением 10 мин	37	25,9	30 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин, далее выпаривание до состояния влажных солей	36	26,1	30 мин
СВЧ-обработка в азотной кислоте, без давления 10 мин, последующее выпаривание до состояния влажных солей	10	26,2	25 мин
Термическое разложение в присутствии кипящей серной кислоты	35	26,4	12 час
Термическое разложение в присутствии хлорной кислоты	32	24,6	10 час
Термическое разложение в азотной кислоте	18	26,8	8 час
СВЧ-обработка в азотной кислоте под давлением 10 мин	36	25,7	20 мин
СВЧ-обработка в азотной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин, далее выпаривание до состояния влажных солей	32	26,0	45 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте под давлением 10 мин	37	25,9	30 мин
СВЧ-обработка в хлорной кислоте без давления 10 мин, затем под давлением 10 мин, далее выпаривание до состояния влажных солей	36	26,1	30 мин
СВЧ-обработка в азотной кислоте, без давления 10 мин, выпаривание досуха	20	26,2	25 мин

2.4.2 Разработка условий определения общего фосфора

в виде фосфатов методом капиллярного электрофореза

В отношении аналитического исполнения КЭ-анализа общего фосфора известные литературные данные [237, 244, 296] позволили предложить для реализации КЭ-методики ведущий электролит, содержащий бихромат, хромат-ион, дипиколиновую кислоту – ДПК (обеспечение регистрации компонентов), уротропин, диэтаноламин, тетраметилендиамин – ТЕМЕД, этилендиуксусную кислоту — ЭДДК, калийную щелочь, азотную кислоту – модификаторы электролита, обеспечивающие разделение компонентов. Первый этап поиска состава ведущего электролита на основе азотной кислоты показан в таблице 23. Использованы различные дозировки как кислоты, так и хромата калия, в небольших количествах добавлена вода для уменьшения ионной силы растворов и увеличения скорости миграции компонентов.

Данные таблицы 23 показали, что улучшить разделение фосфат-иона и повысить чувствительность метода за счет увеличения концентрации хромата калия, азотной кислоты не удалось. На рисунке 17 показан пример электрофореграммы, демонстрирующий установленные недостатки условий анализа.

В результате повышения ионной силы ведущего электролита за счет азотной кислоты происходило увеличение времени анализа и резко возрастал ток, приближаясь к максимально допустимому на приборе. Эксплуатация прибора в условиях анализа, близким к критическим параметрам, является недопустимой ввиду возможности его повреждения. Варьирование добавки воды также не привело к положительным результатам.

Таблица 23 – Модификация состава ведущего электролита
в системе хромат калия – азотная кислота

№	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация результатов
	хромат калия, 10 мМ, см ³	азотная кислота, конц., мм ³	Вода дист., см ³	
1	0,6	20	2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9292, предел обнаружения 18 мг/дм ³ , время анализа 12 мин
2	0,6	20	3	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,8842, предел обнаружения 10 мг/дм ³ , качество разделения фосфата и анионов – 0,48, время анализа 11 мин
3	0,6	40	2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,7892, предел обнаружения 20 мг/дм ³
4	0,6	40	3	Отсутствие сепарации
5	0,6	60	3	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9091, предел обнаружения 14 мг/дм ³ , время анализа 12 мин
6	0,6	80	3	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,8595, предел обнаружения 10 мг/дм ³ , время анализа 15 мин

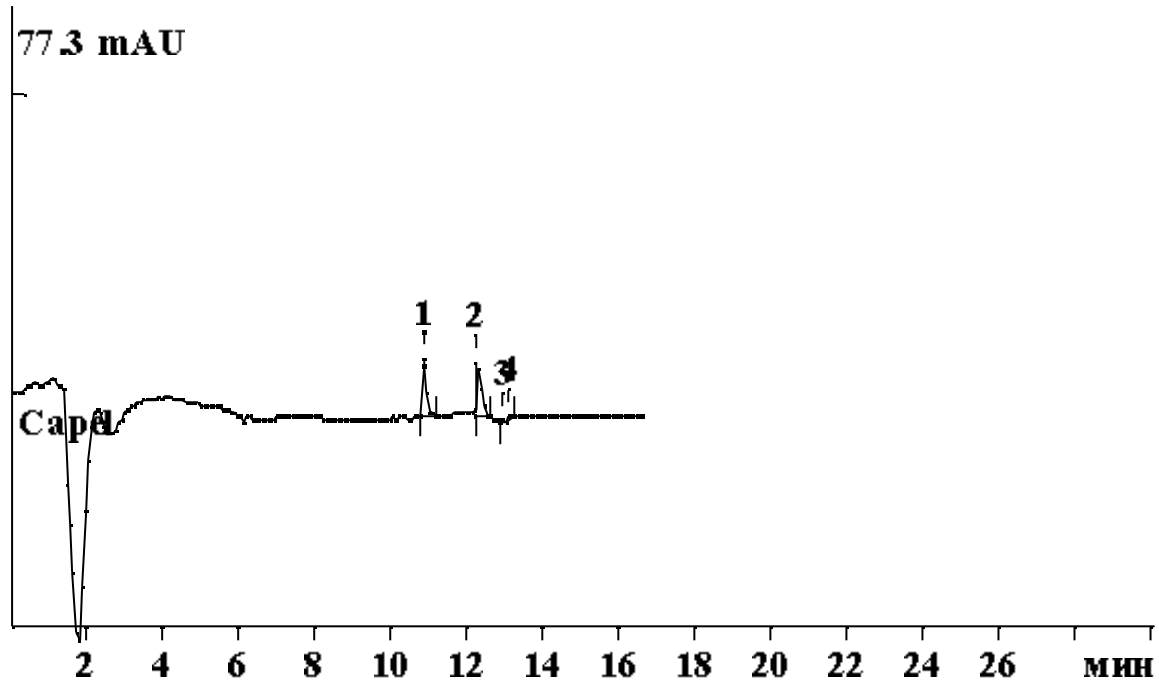


Рисунок 17 – Электрофореграмма градуировочной смеси, электролит состава № 2 из табл. 23, отрицательное напряжение 16кВ, пик фосфата не зарегистрирован

Проведенные эксперименты позволили установить необходимость тщательной промывки капилляра перед каждым анализом пробы: уменьшение времени промывки реагентами приводило к загрязнению внутренней поверхности капилляра и его выходу из строя. Обнаружено существенное смещение времени миграции и искажение площадей пиков.

Примеры электрофореграмм показаны на рисунках 18 и 19.

Первый этап поиска состава ведущего электролита на основе калийной щелочи, обеспечивающий высокий рН среды, показан в таблице 24. Использованы различные дозировки как щелочи, так и хромата калия, в небольших количествах добавлена вода для уменьшения ионной силы растворов и увеличения скорости миграции компонентов.

Рисунок 18 – Электрофореграмма стандартного раствора, электролит № 3 из
таблицы 23,
отрицательное напряжение 16 кВ, пики 1,2 – хлорид и сульфат соответственно

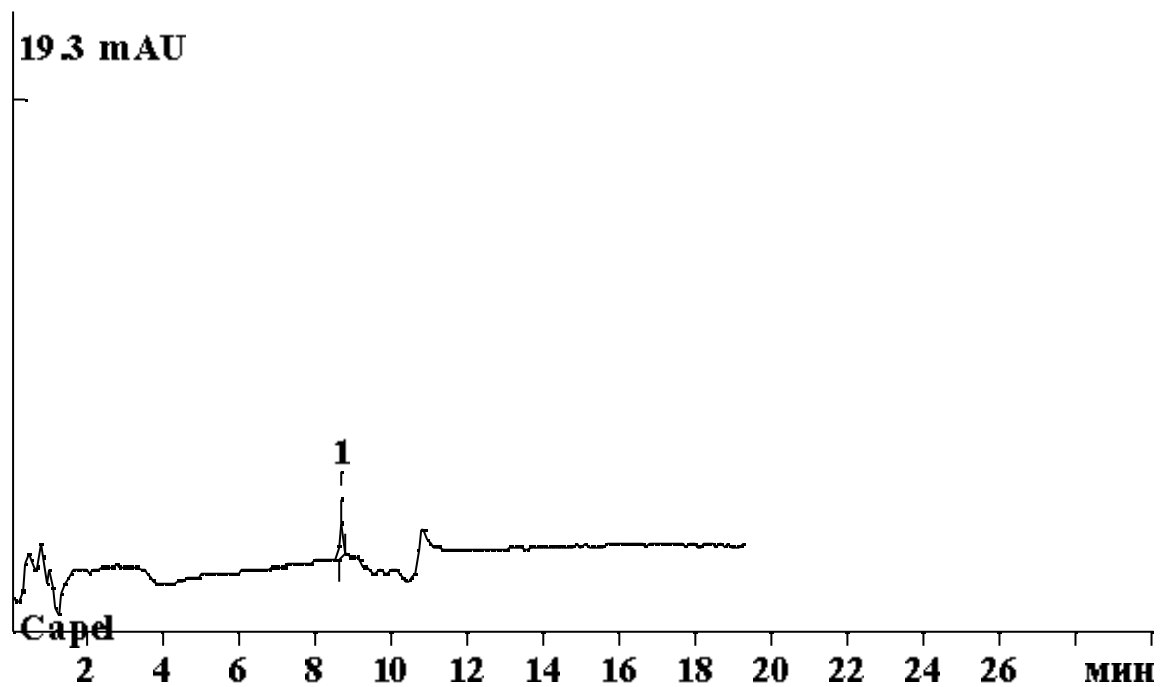
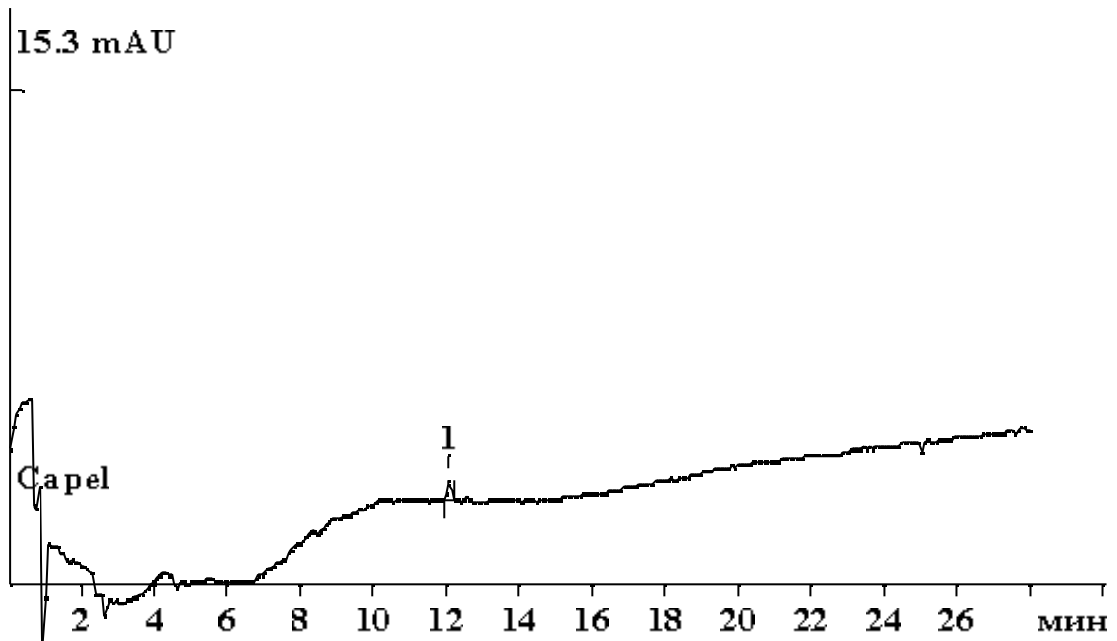


Рисунок 19 – Электрофореграмма стандартного раствора,
электролит № 5 из таблицы 23, отрицательное напряжение 16 кВ,
пик 1 – помеха анализа, фосфат не обнаружен

Таблица 24 – Модификация состава ведущего электролита, составляющие – хромат калия, гидроксид калия, вода

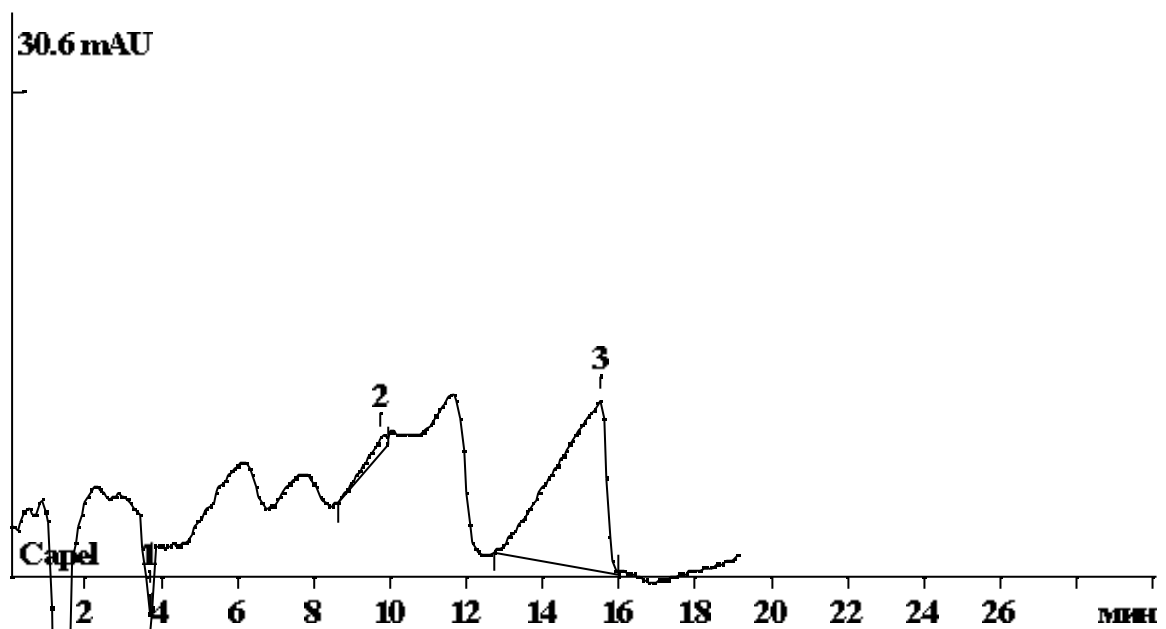
№	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация результатов
	хромат калия, 10 мМ, см ³	вода дист., см ³	КОН, 1% водный раствор, мм ³	
1	0,5	1	20	Разделение отсутствует, непригоден для анализа
2	0,5	1	40	Разделение отсутствует, непригоден для анализа
3	0,5	2	40	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,8893, предел обнаружения 10 мг/дм ³ , критерий разделения фосфата-ионов – 0,48, время анализа 30 мин
4	0,5	2	60	Разделение отсутствует, непригоден для анализа
5	0,5	2,5	60	Разделение отсутствует, непригоден для анализа
6	0,5	1	100	Разделение отсутствует, непригоден для анализа
7	0,5	2	100	Разделение отсутствует, непригоден для анализа

Пример электрофореграммы в условиях электролита № 6 из таблицы 24 показан на рисунке 20, а в условиях электролита № 2 – на рисунке 21. В ходе эксперимента изменяли температуру капилляра, однако это не привело к улучшению параметров разделения.



условия : температура термостата плюс 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ,
ток 75 мкА, состав электролита № 6 из таблицы 24;
пик № 1 – помеха анализа, пик фосфата не зарегистрирован

Рисунок 20 – Электрофореграмма градуировочной концентрации фосфата
электролит № 6



условия: температура термостата плюс 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ,
ток 95 мкА, состав электролита № 2 из таблицы 24; пики № 2–3 – помеха анализа

Рисунок 21 – Электрофореграмма градуировочного раствора фосфата

В результате повышения ионной силы ведущего электролита за счет калийной щелочи происходило увеличение времени анализа и резко возрастал ток, приближаясь к максимально допустимому на приборе. Варьирование концентраций щелочи также не привело к положительным результатам. Проведенные эксперименты позволили установить необходимость тщательной промывки капилляра перед каждым анализом пробы: упрощение и уменьшение времени режима промывки приводило к загрязнению капилляра и его выходу из строя. Ввиду отрицательных результатов, полученных при использовании таких сильных электролитов как азотная кислота и щелочь, на следующем этапе использовали более слабый электролит – ЭДДЖ (таблица 25).

Пример электрофореграммы, согласно условиям таблицы 25, показан на рисунке 22.

условия: температура термостата плюс 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ, ток 55 мкА, состав электролита № 4 из таблицы 25; пики № 1–3 – помеха анализа, наличие фосфата не зарегистрировано

Рисунок 25 – Электрофореграмма градуировочной концентрации фосфата

Таблица 25 – Модификация состава ведущего электролита,
составляющие – хромат калия, ЭДДК, вода

№	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация результатов
	хромат калия, 1%, см ³	ЭДДК, 0,09% см ³	вода дист., см ³	
1	0,3	0,2	1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9122, предел обнаружения 20 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , качество разделения пар – 1,0, время анализа 18 мин
2	0,3	0,3	1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9021, предел обнаружения 35 мг/дм ³ , линейность до 1200 мг/дм ³ , качество разделения пар – 1,0, время анализа 20 мин
3	0,3	1,5	1,5	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9421, предел обнаружения 25 мг/дм ³ , линейность до 1200 мг/дм ³ , качество разделения пар – 1,0, время анализа 19 мин
4	0,3	2	1,5	Пик не проявился на электрофореграмме
5	0,4	2	1,5	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9223, предел обнаружения 30 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , качество разделения пар – 1,0, время анализа 22 мин
6	0,4	2	2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9326, предел обнаружения 30 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , качество разделения пар – 1,0, время анализа 25 мин

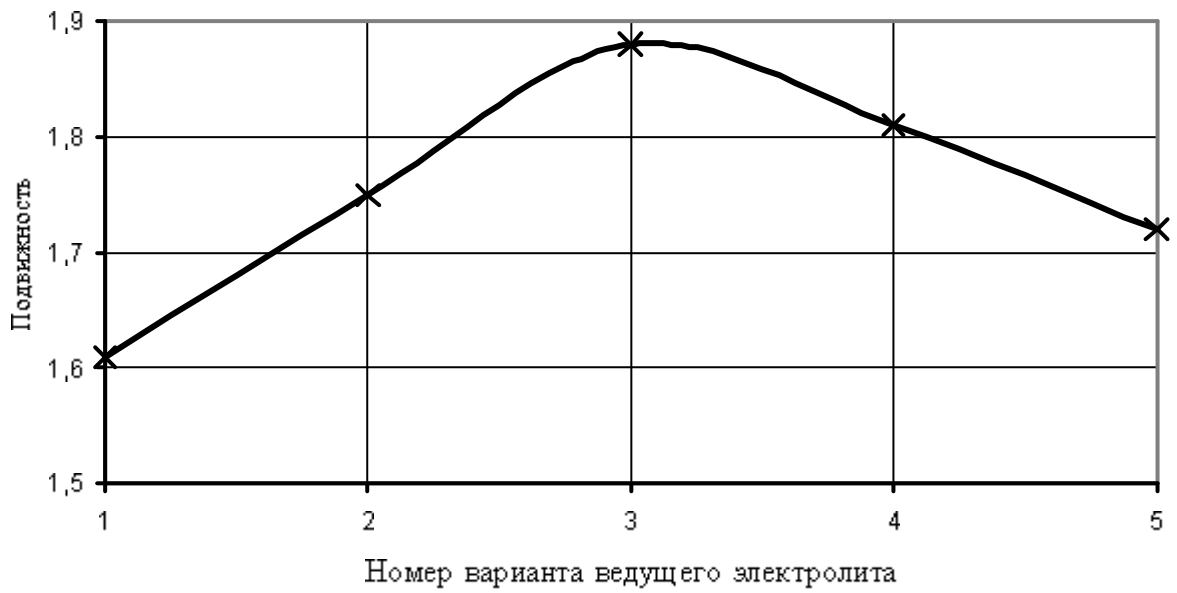
На следующем этапе использовали более слабый электролит щелочного характера — уротропин (таблица 26). Ведущий электролит, содержащий 0,2% хромата калия и 0,2–0,6% уротропина, который использовали при отрицательной полярности напряжения и длине волны детектирования – 254 нм.

Таблица 26 – Модификация состава ведущего электролита, составляющие – хромат калия, уротропин, вода

№	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация результатов
	хромат калия, 1%, см ³	Уротропин, 0,5%, см ³	вода дист., см ³	
1	1	1	0	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9578, предел обнаружения 25 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 30 мин
2	1	0	1	Пик фосфата не проявился
3	1	2,5	0	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9347, предел обнаружения 25 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 22 мин
4	1	2	0	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9375, предел обнаружения 15 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 25 мин
5	0,2	1,5	1	Пик фосфата не проявился

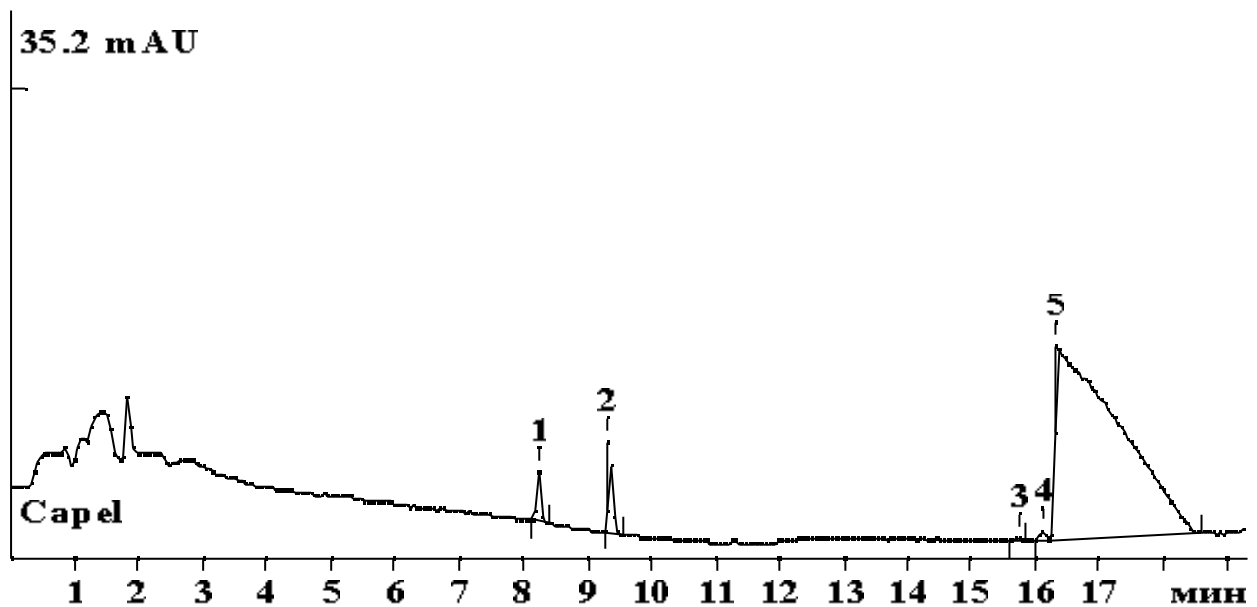
Наблюдаемая подвижность фосфат-иона (10^{-4}), см²/(В•с), характеризующая качество анализа, в зависимости от соотношения составляющих электролита, показана на рисунке 23.

Пример разделения при максимуме значения наблюдаемой подвижности показан на рисунке 24.



отрицательное напряжение 16 кВ; содержание хромата калия и уротропина
 № 1 – 0,2–0,3 %, № 2 – 0,2–0,4 %, № 3 – 0,2–0,6 %, № 4 – 0,2–0,8 %, № 5 – 0,4–0,6
 %

Рисунок 23 – Наблюдаемая подвижность фосфат-иона (10^{-4}), см²/(В·с)
 в зависимости от соотношения составляющих электролита



условия температура термостата 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ,
 ток 25 мкА, состав электролита № 2 из таблицы 25;
 пики № 1–3 – помеха анализа, пик № 5 – фосфат

Рисунок 24 – Электрофореграмма градуировочной концентрации фосфата

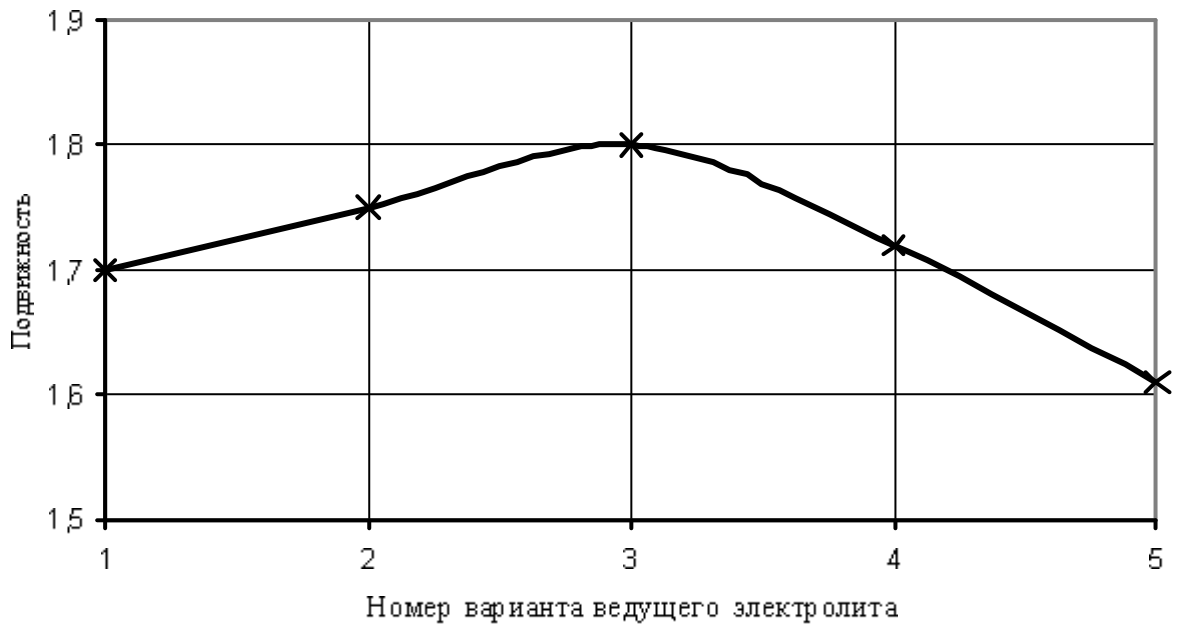
Данные рисунка 23 показали, что увеличение содержания уротропина до 0,6% обеспечивает возрастание электрофоретической подвижности фосфата и его определение при наличии избытка сульфата и нитрата. Увеличение концентрации хромата калия до 0,4% ухудшает условия разделения, в первую очередь, за счет резкого возрастания тока и увеличения тепловых шумов в капилляре. Рекомендуется термостатирование капилляра при плюс 24°C; ввод пробы – пневматический – 30 мБар в течение 5 сек.

Далее анализ выполняли на системе капиллярного электрофореза в кварцевом капилляре, эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром 75 мкм, использовали водный раствор ведущего электролита, содержащий 0,3 % хромата калия и 1% уротропина при отрицательной полярности напряжения и длине волны детектирования – 254 нм (таблица 27).

Наблюдаемая подвижность фосфата (10^{-4}), $\text{см}^2/(\text{В}\cdot\text{с})$, характеризующая качество анализа, в зависимости от соотношения составляющих электролита, показана на рисунке 25: увеличение содержания уротропина до 0,8% обеспечивает возрастание наблюдаемой электрофоретической подвижности фосфат-иона и его определение при наличии избытка сульфат и нитрат-ионов. Увеличение концентрации хромата калия до 0,6% ухудшает условия разделения, в первую очередь, за счет резкого возрастания тока и увеличения тепловых шумов в капилляре. Рекомендуется термостатирование капилляра при плюс 24°C; дозирование пробы – пневматическое – 30 мБар в течение 5 сек. Примеры электрофореграмм показаны на рисунках 26, 27, 28.

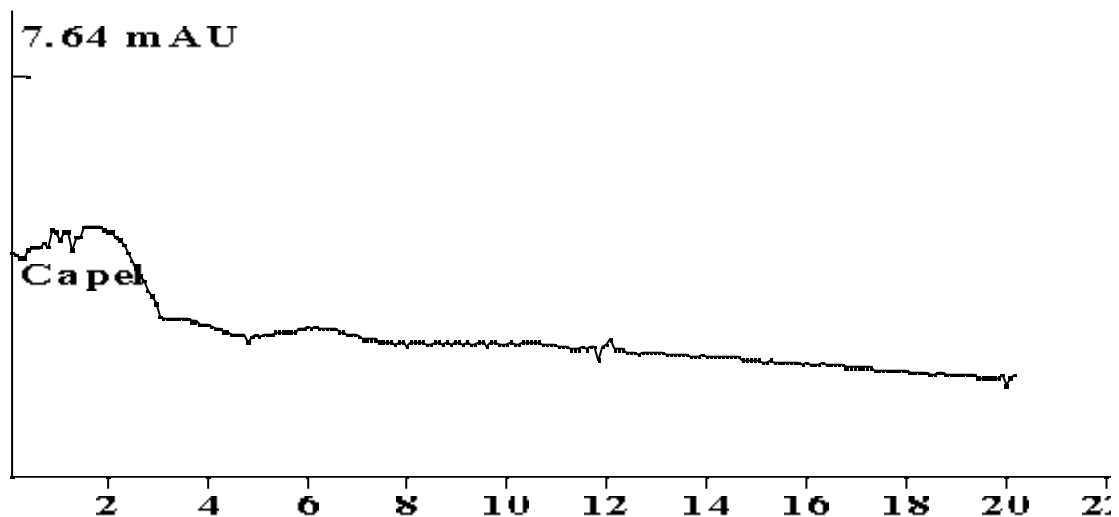
Таблица 27 – Модификация состава ведущего электролита,
составляющие – хромат калия, уротропин, вода

№	Наименование ингредиента и его дозировка			Интерпретация результатов
	хромат калия, 1%, см ³	уротропин, 0,5%, см ³	вода дист., см ³	
1	0,3	1	1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9973, предел обнаружения 25 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 18 мин
2	0,3	1	1,5	Пик фосфата не проявился, не пригоден для анализа
3	0,4	1	2	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9884, предел обнаружения 5 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 20 мин
4	0,4	1	2,5	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9897, предел обнаружения 5 мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 16 мин
5	0,5	0,6	4	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9973, предел обнаружения 10мг/дм ³ , линейность до 1000 мг/дм ³ , время анализа 22 мин
6	0,6	2	2	Пик фосфата не проявился, высокий уровень шумов



отрицательное напряжение 16 кВ; 1 – 0,3% хромата калия и 0,6% уротропина,
 2 – 0,3% хромата калия и 0,8% уротропина, 3 – 0,4% хромата калия
 и 0,8% уротропина, 4 – 0,4% хромата калия и 1% уротропина,
 5 – 0,6% хромата калия и 1% уротропина

Рисунок 25 – Наблюдаемая подвижность фосфат-иона (10^{-4}), $\text{см}^2 / (\text{В}\cdot\text{с})$
 в зависимости от соотношения составляющих электролита,



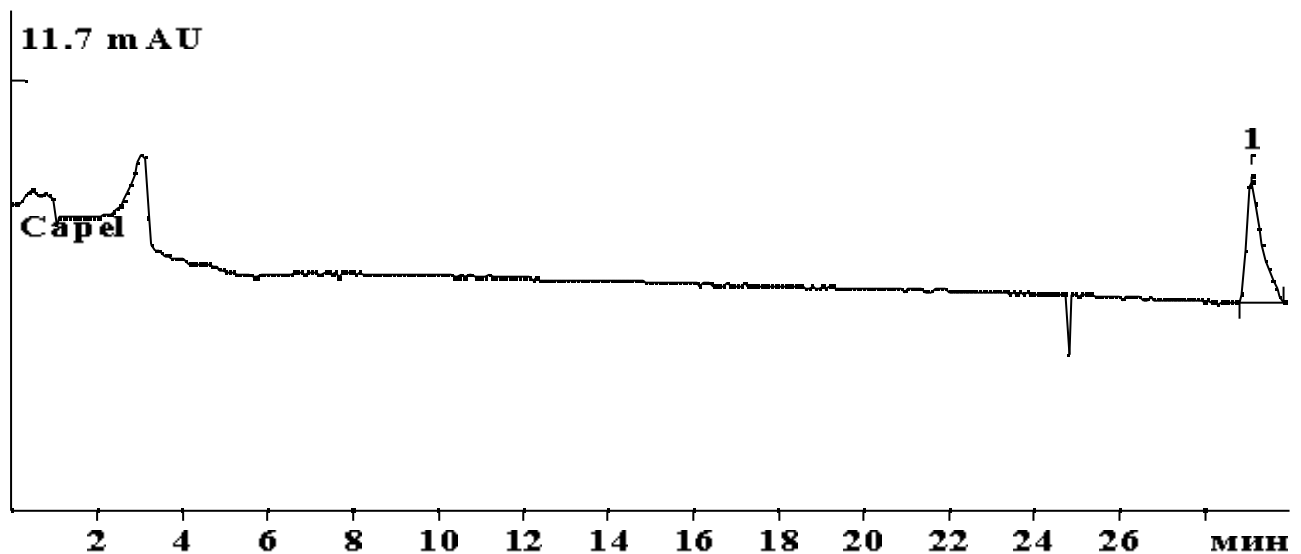
условия: температура термостата плюс 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ,
 ток 80 мкА, состав электролита № 1 из таблицы 27

Рисунок 26 – Электрофореграмма градуировочной концентрации фосфата

условия: температура термостата плюс 24°C, отрицательное напряжение 16 кВ,
ток 34 мкА, состав электролита № 3 из таблицы 27;
пик № 1 – хлорид, пик № 2 – сульфат

Рисунок 27 – Электрофореграмма градуировочной концентрации фосфата

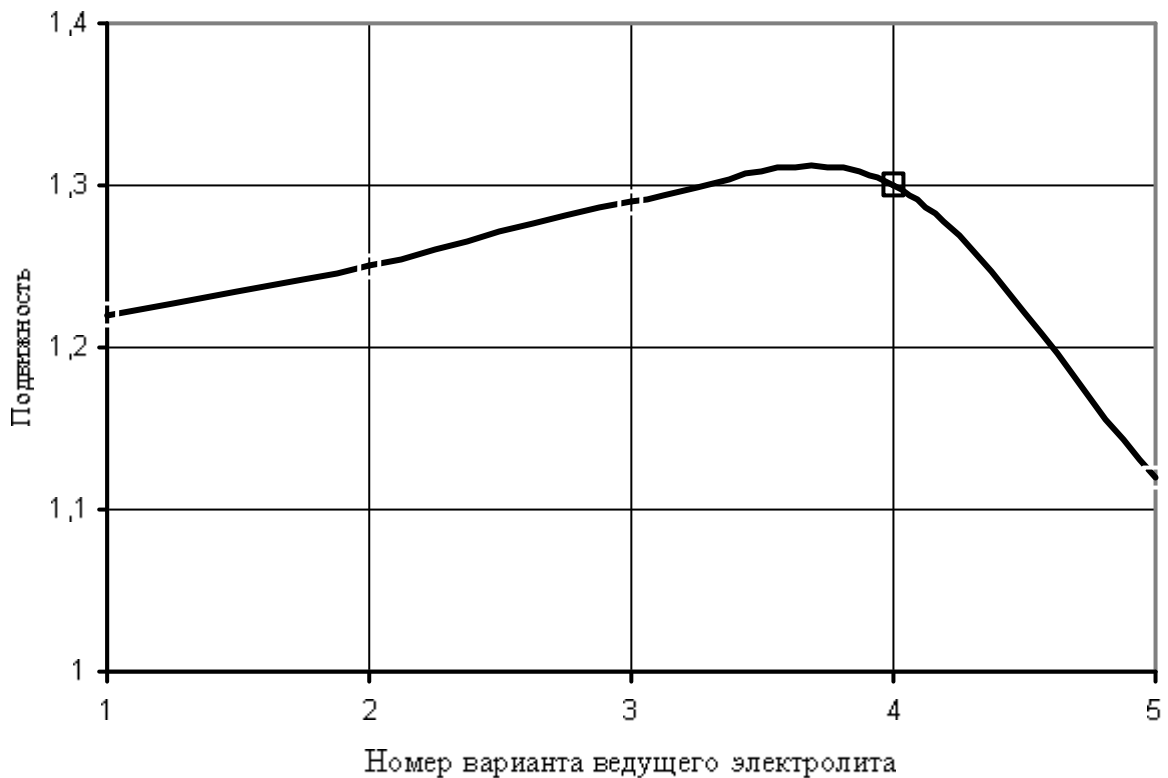
Фосфат удалось зарегистрировать путем понижения ионной силы электролита за счет его разбавления водой. Таким образом, установлено, что электролит ограниченно пригоден для определения фосфата ввиду довольно значительного времени миграции изучаемого вещества (рисунок 28).



состав электролита № 5 из таблицы 27; пик № 1 – фосфат

Рисунок 28 – Электрофореграмма разделения фосфат

Определение концентраций фосфата с более высокой чувствительностью в диапазоне 1–100 мг/дм³ разрабатывали на системе капиллярного электрофореза в кварцевом капилляре эффективной длиной 0,5 м, внутренним диаметром 75 мкм, использовали водный раствор ведущего электролита, содержащий смешанные в объемных соотношениях 8:1:1 растворы 0,11% дипиколиновой кислоты, 1,01% масс – тетраметиленамина, 0,09% – этилендиуксусной кислоты, при отрицательной полярности напряжения и длине волны детектирования – 254 нм. Влияние варьирования концентраций компонентов электролита на подвижность фосфата показано на рисунке 29.

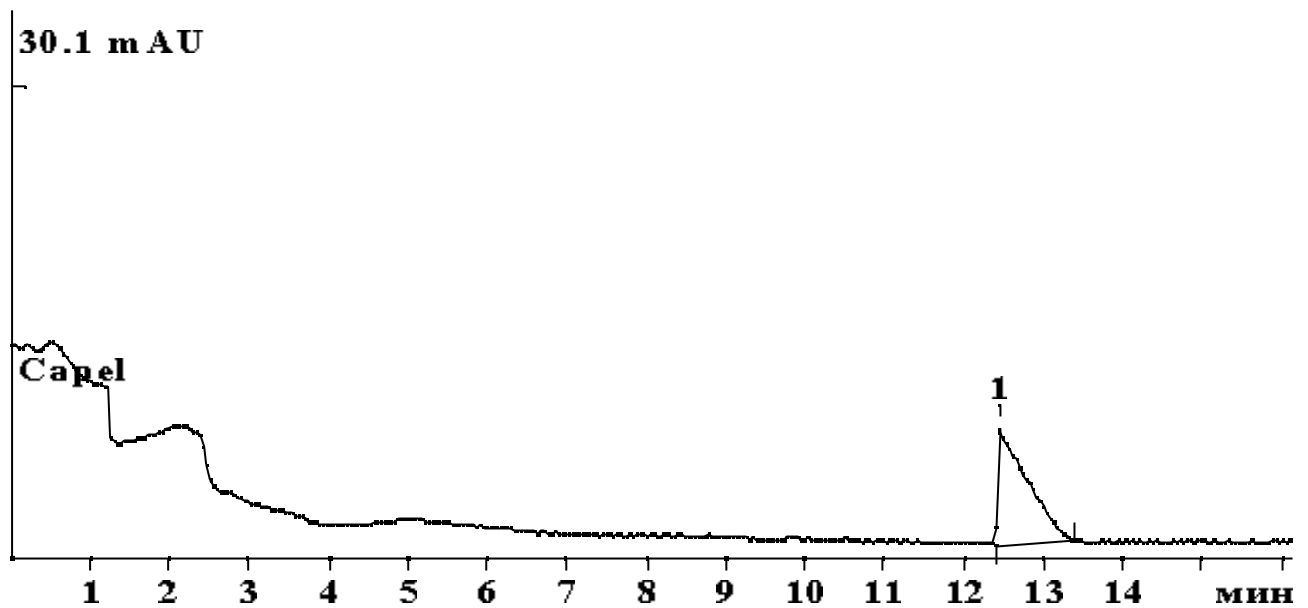


отрицательное напряжение 23 кВ; содержание дипиколиновой кислоты, тетраметиленамина, этилендиуксусной кислоты № 1 – 0,03–0,3–0,03%,
 № 2 – 0,06–0,5–0,05%, № 3 – 0,11–1,01–0,09, № 4 – 0,15–1,5–0,2%,
 № 5 – 0,18–1,8–0,12%

Рисунок 29 – Наблюдаемая подвижность фосфат-иона (10^{-4}), см²/(В•с)

в зависимости от концентраций составляющих электролита

Данные рисунка 29 показали, что увеличение содержания дипиколиновой кислоты до 0,11% обеспечивает возрастание электрофоретической подвижности фосфат-иона и его определение при наличии избытка сульфат и нитрат-ионов. Рекомендуется термостатирование капилляра при плюс 26°С; ввод пробы – пневматический: 30 мБар в течение 5 сек. Пример электрофореграммы калибровочного раствора фосфата показан на рисунке 30.



0,11% дипиколиновой кислоты, 1,01% тетраметиленамина,
0,09% этилендиуксусной кислоты, отрицательное напряжение 23 кВ,
ток 44 мкА, термостатирование плюс 26°С,
электрофоретическая подвижность пика 1 составила $1,42 (10^{-4}) \text{ см}^2/\text{В}\cdot\text{сек}$

Рисунок 30 – Электрофореграмма градуировочной смеси фосфата

Для разработанных условий анализа двух вариантов КЭ была проверена стабильность времени выхода фосфата в зависимости от количества анализов пробы на одной порции электролита, что особенно важно для обеспечения стабильности количественного анализа (таблица 28).

Таблица 28 – Время выхода (мин) анализируемых компонентов на одной порции ведущего электролита в зависимости от числа дозирования пробы

№ дозирования	Хромат-уротропин	ДПК-ЭДДК-ТЕМЕД
1	14,12±0,1	12,52±0,1
2	14,12±0,1	12,57±0,1
3	14,15±0,1	12,60±0,1
4	14,32±0,1	12,60±0,1
5	14,47±0,1	12,22±0,1
6	14,67±0,1	12,28±0,1
7	15,1±0,1	12,45±0,1
8	15,9±0,1	12,65±0,1

Изменение времени выхода пиков для определяемых компонентов (сравнение пятого повтора с первым) не превышало 3–4%. Результаты количественного анализа для пятого повтора не превышали 1%, что удовлетворяет требованиям стабильности. Данные таблицы 28 свидетельствуют о необходимости замены раствора ведущего электролита после пяти результативных измерений в данных условиях анализа. Раствор ведущего электролита не подлежит хранению более 24 часов с момента приготовления. Получены результаты оценки качества анализа образцов вина с целью установления диапазона измерений и предела чувствительности разрабатываемой методики, которые позволили предположить, что для получения достоверных данных о концентрации фосфата в образце, его содержание не должно быть более 200 мг/дм³. Выполнена проверка влияния кратности разбавления пробы на результаты определения фосфата (таблица 29).

Таблица 29 – Сравнительный анализ сухого белого вина для определения содержания фосфата с использованием разных кратностей разбавления, P = 0,95

Состав электролита для анализа	Кратность разбавления пробы вина			
	2	10	20	50
Хромат-уротропин	92	9,4	–	–
ДПК-ЭДДК-ТЕМЕД	100	9,8	1,02	–

При разбавлении 20 и 50 фосфат не обнаружен. Электролит хромат-уротропин пригоден для определения концентраций фосфата не менее 5 мг/дм³. Электролит ДПК-ЭДДК-ТЕМЕД – для определения концентраций не менее 1 мг/дм³. Таким образом, для испытуемых объектов обязательно должны быть установлены рекомендуемые кратности разбавления, иначе результаты анализа будут значительно искажены. Результаты исследования образцов для градуировки показаны в таблице 30.

Таблица 30 – Результаты измерений концентрации фосфата в образцах для градуировки

№	Номер образца для градуировки					
	2	1	3	3	5	5
	нижняя граница		среднее значение		верхняя граница	
	аттестованное значение образца для градуировки, мг/дм ³					
	хромат-уротропин	ДПК-ТЕМЕД-ЭДДК	хромат-уротропин	ДПК-ТЕМЕД-ЭДДК	хромат-уротропин	ДПК-ТЕМЕД-ЭДДК
1	4,95	1,0	10,3	10,5	102	104
2	4,92	1,1	10,1	10,3	103	105
3	5,02	1,05	9,85	10,4	104	102
4	4,98	0,95	10,4	10,6	102	99
5	4,97	0,92	10,3	10,0	99	97
6	4,92	0,97	10,3	10,1	97	98
7	4,94	0,96	10,2	10,2	95	96
8	4,92	0,98	10,1	10,1	97	98
9	5,0	1,0	10,4	10,5	102	97
10	5,01	1,1	10,3	1,1	98	102
11	5,02	1,02	10,2	10,2	97	101
12	5,03	1,03	10,4	10,3	96	102
13	5,02	1,03	10,4	10,4	98	104
14	5,03	1,05	10,5	10,2	97	103
15	4,95	0,98	10,8	10,2	95	104
16	4,99	0,99	9,7	10,4	98	105
17	4,97	0,97	9,8	10,3	101	103
18	4,98	1,0	9,5	9,8	99	102
19	5,0	0,98	9,7	9,7	97	104
20	4,95	0,95	9,8	9,8	96	98

Результаты градуировки признаны для обоих вариантов методики положительными, что позволило установить показатели качества методики количественных измерений фосфата (таблицы 31, 32).

Таблица 31 – Показатели прецизионности метода определения массовой концентрации общего фосфора для электролита хромат-уротропин

Диапазон измерений, мг/дм ³	5–500
Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), δ_r , %	6
Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), δ_R , %	15
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %, $P = 0,95$, $n = 2$	10
Предел воспроизводимости, R , %, $P = 0,95$, $n = 2$	20
Границы относительной погрешности при вероятности, $\pm \Delta$, %, $P = 0,95$, $n = 2$	16

Таблица 32 – Показатели прецизионности метода определения массовой концентрации общего фосфора для электролита ДПК-ТЕМЕД-ЭДДК

Диапазон измерений, мг/ дм ³	1–100
Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), δ_r , %	6
Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), δ_R , %	14
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %, $P = 0,95$, $n = 2$	10
Предел воспроизводимости, R , %, $P = 0,95$, $n = 2$	22
Границы относительной погрешности при вероятности, $\pm \Delta$, %, $P = 0,95$, $n = 2$	18

Проведенные исследования позволяют предложить следующий алгоритм анализа: отбор пробы для анализа – проведение СВЧ-минерализации или окислительного термического разложения пробы – подготовка пробы к

анализу; разбавление, изменение pH, фильтрация, центрифугирование – определение общего фосфора методом КЭ, приложение А-4.

2.4.3 Определение массовой концентрации приоритетных аминокислот вина

Известно, что виноградные вина отличаются от других пищевых продуктов значительным многообразием компонентов, достигающим 800 [276]. Органолептические свойства виноградных вин формируются как летучими, так и нелетучими компонентами, которые, взаимодействуя друг с другом, определяют их ароматические и вкусовые характеристики. Летучие компоненты, по большей части, формируют ароматические, нелетучие – вкусовые свойства. Следует отметить, что вкусовые характеристики вин определяются в большей степени содержанием титруемых кислот, свободных аминокислот, минеральным и фенольным комплексами [279, 300]. Титруемые кислоты совместно с уксусной кислотой формируют кислый оттенок вкуса, тогда как минеральные компоненты и аминокислоты на фоне содержания разнообразных фенольных соединений способны проявлять уникальные вкусовые характеристики (паслена, помаранца, экзотических фруктов, смородины, ореховые и т.д.) [301]. Особое значение в пищевой ценности любого продукта имеют аминокислоты, прежде всего, незаменимые. К действию аминокислот на организм человека относят: регуляцию скорости обмена веществ; укрепление иммунной системы и снижение уровня холестерина; защиту мышечных тканей; стимулирование выделения гормона роста; нормализацию метаболизма углеводов и нормального функционирования нервной системы [302, 303]. Состав и содержание свободных аминокислот плодов, ягод, пищевых продуктов зависят от многих факторов. Аминокислоты, прежде всего, незаменимые, определяют пищевую ценность протеина. В соке

винограда идентифицированы аминокислоты нейтральные, серосодержащие, двухосновные, основные, ароматические, гетероциклические [33, 304].

Вино содержит относительно немного протеина (десятки мг), довольно значительное количество пептидов – дополнительного источника свободных аминокислот, т.к. они подвержены гидролизу под действием естественной кислотности вина и ферментов, и это приводит к увеличению массовой концентрации свободных аминокислот в процессе выдержки вина [279]. Содержание свободных аминокислот в винах тесно связано с их качеством, технологией и как итог – натуральностью. Следует отметить, что концентрация пролина составляет 60–70% от общей суммы аминокислот в вине, что объясняется особенностями метаболизма дрожжей [33].

Протеин и пептиды, содержащиеся в виноградном вине, играют важную роль в характеристике вина – от аромата и полноты вкуса до обеспечения пенообразования для игристых вин [11, 24]. Содержание свободных аминокислот в винах тесно связано с их качеством, технологией и как итог – натуральностью. Однако предпринятые ранее попытки определить взаимосвязь между содержанием свободных аминокислот и подлинностью вин привели к противоречивым результатам [40].

Большое внимание исследователей уделяется изучению содержания минеральных компонентов и азотсодержащих соединений в винах [276, 278, 280]. Совершенствование аналитических методик определения аргинина, пролина, треонина в натуральных винах посредством КЭ представляется актуальной и своевременной задачей. Большинство существующих на данном этапе методов определения аминокислот требует пробоподготовки: сепарирование, декарбонирование, проведение различных реакций, например, с фенилизотиоцианатом и т.д. На каждой стадии пробоподготовки не исключены погрешности и ошибки. Применение КЭ позволяет сократить до минимума довольно длительные процессы пробоподготовки в случае определения

свободных аминокислот и таким образом повысить оперативность и точность измерений.

Исследования выполнены на системах капиллярного электрофореза серии «Капель», оборудованных ультрафиолетовым детектором и кварцевым капилляром длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м. Детектирование аминокислот, 254 нм, осуществляли косвенным методом, благодаря использованию в составе ведущего электролита бензимидазола [277].

Калибровочные растворы 10, 50, 100, 200, 500 мг/дм³ готовили на 16 (10)%-ном водном растворе этилового ректифицированного спирта из химически чистых препаратов пролина, аргинина и треонина. Растворы концентрацией более 100 мг/дм³ устойчивы в течение месяца при комнатной температуре, остальные – действительны в день выполнения калибровки. На основании собственных наблюдений и имеющихся литературных данных, был проведен ряд экспериментов по установлению оптимального состава электролита с использованием фосфорной кислоты и бензимидазола [228, 237, 238].

Установление состава электролита. Учитывая силу электролита, на первом этапе использовали следующий состав электролита.

Раствор фосфорной кислоты концентрацией 0,3%: 75 мг фосфорной кислоты вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, далее растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Раствор бензимидазола концентрацией 0,26%: 65 мг бензимидазола вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Рабочий электролит готовили следующим образом: смешивали полученные растворы фосфорной кислоты и бензимидазола в соотношении 1,9:0,1, в объеме достаточном для проведения измерений в течение одного рабочего дня (таблица 29). Для установления качества анализа выбрали контролируемые параметры – время миграции пиков, эффективность анализа, выражаемая через число теоретических тарелок (Тт).

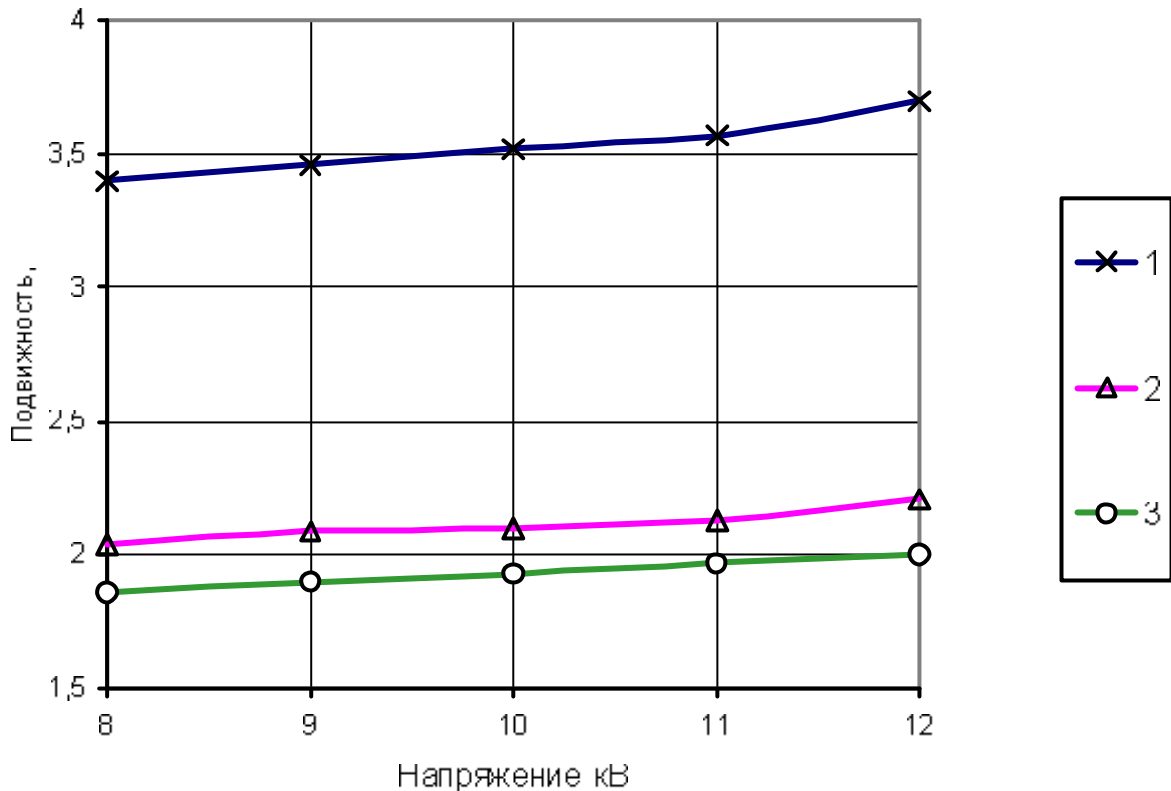
Таблица 29 – Миграция (мин), подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тт) анализируемых веществ при использовании 0,3% раствора фосфорной кислоты и 0,26% раствора бензимидазола в объемном соотношении 1,9:0,1

Напряжение, кВ	Показатель	Аргинин	Треонин	Пролин
8	Миграция, мин	11,84	20,58	22,56
	Тт	94100	24000	34000
	Подвижность	3,52	2,02	1,89
9	Миграция, мин	16,00	27,56	30,35
	Тт	62400	16270	21600
	Подвижность	3,44	2,00	1,81
10	Миграция, мин	14,13	24,52	27,00
	Тт	100900	17400	20750
	Подвижность	3,54	2,04	1,85
11	Миграция, мин	12,78	22,16	24,38
	Тт	104700	24250	27300
	Подвижность	3,52	2,02	1,85
12	Миграция, мин	18,21	29,72	33,55
	Тт	51400	14200	13100
	Подвижность	3,43	2,10	1,86

Эффективность Тт существенно увеличилась при 10 кВ, достигла максимума при 11 кВ и несколько снизилась при 12 кВ. Данные таблицы 29 свидетельствуют о приемлемом качестве разделения аминокислот, однако при напряжении 10 кВ существенно меняются коэффициенты чувствительности для исследуемых веществ: аргинин – 1, треонин – 0,5, пролин – 0,6, и устанавливается

относительно невысокий предел обнаружения: аргинин – 20, треонин – 10, пролин – 12 мг/дм³.

Изменения наблюдаемой подвижности аминокислот от приложенного напряжения в системе фосфорная кислота – бензимидазол в соотношении 2:0,1 приведены на рисунке 31. Соотношение изменили для достижения улучшенных параметров разделения изучаемых компонентов.

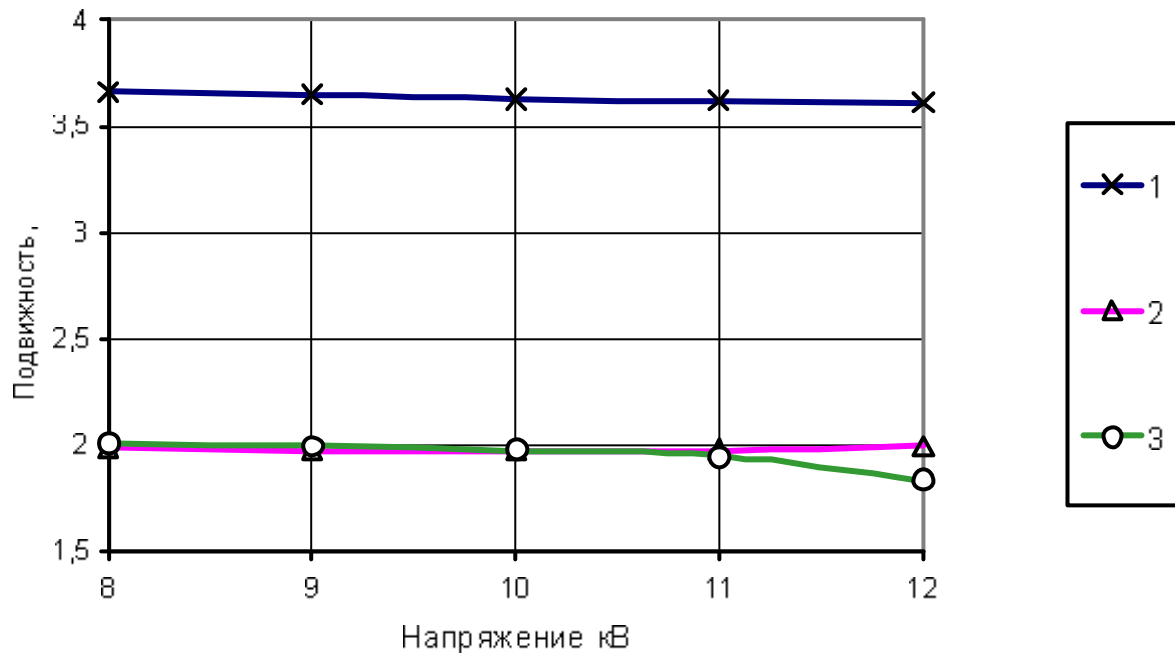


аргинин – 1, треонин – 2, пролин – 3 – в зависимости от напряжения кВ;
 электролит – 0,3% фосфорная кислота, 0,26% бензимидазол –
 в соотношении 2:0,1

Рисунок 31 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) аминокислот:

Данные рисунка 31 свидетельствуют о достаточном качестве разделения аминокислот, однако наблюдалось снижение коэффициента чувствительности аргинин (1), треонин – 1, пролин – 1,16. Соответственно снизился предел обнаружения аргинина, треонина – 15, пролина – 20 мг/дм³.

Результаты исследования параметров пиков анализируемых веществ при использовании электролита 0,25% фосфорной кислоты и 0,3% бензимидазол в объемном соотношении 2:0,1 приведены на рисунке 32.



аргинин – 1, треонин – 2, пролин – 3 – в зависимости от напряжения кВ;
электролит – 0,25% фосфорная кислота, 0,3% бензимидазол –
в соотношении 2:0,1

Рисунок 32 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) аминокислот

Данные рисунка 32 свидетельствуют о низком качестве разделения треонина и пролина – совмещение кривых подвижности, причем при появлении существенной разницы в подвижностях при 12 кВ увеличение шумов базовой линии значительно мешает анализу. Коэффициенты чувствительности относительно аргинина (1), треонина – 0,68, пролина – 0,89. Порог обнаружения аргинина 8, треонина – 5, пролина – 6 мг/дм³.

Следующим этапом было исследование параметров пиков анализируемых веществ при использовании раствора 0,2% фосфорной кислоты и 0,26% бензимидазола в объемном соотношении 2,5:0,1. Результаты приведены в таблице 30.

Таблица 30 – Миграция (мин), подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тг) анализируемых веществ при использовании раствора 0,2% фосфорной кислоты и 0,26% бензимидазола в объемном соотношении 2,5:0,1

Компонент	8 кВ			10 кВ			12 кВ		
	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность
Аргинин	17,12	1750	3,67	14,33	1580	3,49	11,5	1352	3,78
Треонин	26,54	880	2,34	23,1	620	2,16	19,05	463	2,19
Пролин	27,32	840	2,28	23,24	550	2,15	19,15	420	2,19

Следует отметить уменьшение Тг до 1500, что может быть явно недостаточно при анализе реальных проб: эксперимент показал низкое качество сепарации и значительную потерю чувствительности – до 50 мг/дм³. Поэтому увеличили концентрацию фосфорной кислоты (таблица 31).

Таблица 31 – Миграция (мин), подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тг) анализируемых веществ при использовании раствора 0,33% фосфорной кислоты и 0,26% бензимидазола в объемном соотношении 2:0,1

Компонент	8кВ			10кВ			12кВ		
	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность
Аргинин	16,52	19450	3,78	13,74	17080	3,64	11,21	16552	3,72
Треонин	26,12	3200	2,4	22,37	3006	2,23	18,26	3546	2,28
Пролин	29,27	2750	2,13	25,17	2890	2,20	20,14	2820	2,07

В результате были получены стабильные коэффициенты чувствительности для анализируемых веществ при изменении напряжения анализа: аргинин (1), треонин, пролин – 0,94, при этом несколько снизилось качество разделения

компонентов. Поэтому в следующем эксперименте увеличили концентрацию бензимидазола (таблица 32).

Таблица 32 – Миграция (мин), наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тг) анализируемых веществ при использовании раствора 0,33% фосфорной кислоты и 0,3% бензимидазола в объемном соотношении 2:0,1

Компонент	8кВ			10кВ			12кВ		
	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность
Аргинин	16,54	10200	3,78	13,18	9420	3,79	10,76	8090	3,86
Треонин	25,14	6800	2,48	21,15	7240	2,36	18,65	7500	2,23
Пролин	26,45	7250	2,36	22,95	8400	2,18	20,65	10600	2,01

В результате установлено ухудшение качества разделения компонентов, выразившееся в уменьшении показателя Тг до 10000, поэтому увеличили концентрацию фосфорной кислоты и уменьшили концентрацию бензимидазола (таблица 33).

Таблица 33 – Миграция (мин), наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тг) анализируемых веществ при использовании раствора 0,35% фосфорной кислоты и 0,26% бензимидазола в объемном соотношении 2:0,1

Компонент	10кВ			11кВ			12кВ		
	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность	время миграции	Тг	подвижность
Аргинин	13,13	81500	3,81	11,72	100700	3,84	10,54	115920	3,95
Треонин	22,37	20640	2,23	19,93	24290	2,25	17,81	14130	2,34
Пролин	24,36	24760	2,05	21,74	20970	2,07	19,40	25040	2,15

Полученные результаты показали нестабильность коэффициентов чувствительности: аргинин (1), треонин – 0,61, пролин – 0,87; при 10 кВ все коэффициенты стали равными 1. Кроме того, наблюдали слишком большие тепловые флуктуации сигнала при концентрации анализируемых веществ 50 мг/дм³, что ухудшало пределы обнаружения.

Обобщение проведенных исследований позволило установить оптимальное положительное напряжение для разделения модельной смеси, охарактеризованное наблюдаемой подвижностью аминокислот, которое составило 8 кВ. Подбор напряжения для выполнения определения при установленном рН электролита позволил регулировать длительность процесса анализа и в то же время обеспечить необходимое качество разделения.

Ориентировочное время выхода аминокислот при рН 3,5 и положительном напряжении 8 кВ: пролин – 23 мин, треонин – 21 мин, аргинин – 14 мин. Число Тг для каждого компонента составило 30–50 тысяч. Оптимальные условия анализа: рН электролита 3,5, положительное напряжение 8 кВ, 0,25% раствор фосфорной кислоты, 0,26% – раствор бензимидазола, смешанные в соотношении 2:0,1; контролируемые параметры показаны в таблице 34.

Данные таблицы 34 показали неизменность коэффициентов чувствительности, то есть результаты количественного расчета не зависели от дрейфа времени миграции пика. Для 11 кВ установлен максимум значения подвижности аминокислот. При анализе под напряжением 12 кВ флуктуации базовой линии увеличились в 5 раз, в сравнении с более низким напряжением, и возросли коэффициенты чувствительности: аргинин (1), треонин – 2,33, пролин – 2,75. Порог обнаружения – аргинин – 3, треонин – 6, пролин – 9 мг/дм³.

Таблица 34 – Миграция (мин), подвижность ($\times 10^{-4}$) и число теоретических тарелок (Тт) анализируемых веществ при использовании 0,25% раствора фосфорной кислоты и 0,26% бензимидазола в объемном соотношении 2:0,1

Напряжение, кВ	Параметр	Аргинин	Треонин	Пролин
8	Миграция, мин	17,9±0,3	31,3±0,8	34,6±0,8
	Тт	34600	28200	31000
	Подвижность	3,49	2,0	1,85
9	Миграция, мин	15,46±0,3	26,72±0,7	29,64±0,7
	Тт	53196	18432	45900
	Подвижность	3,55	2,0	1,85
10	Миграция, мин	14,1±0,2	24,8±0,5	27,3±0,5
	Тт	35200	25450	29570
	Подвижность	3,54	2,0	1,83
11	Миграция, мин	12,11±0,2	21,06±0,5	23,4±0,5
	Тт	44380	18760	24060
	Подвижность	3,72	2,14	1,93
12	Миграция, мин	11,45±0,2	20,0±0,5	22,1±0,5
	Тт	46500	38300	28800
	Подвижность	3,66	2,09	1,89

Увеличение дозировки бензимидазола до 0,2 (изменение соотношения 2:0,2 фосфорной кислоты и бензимидазола) увеличивало время миграции компонентов на 4–5% в сравнении с исходным, уменьшало число теоретических тарелок и не изменяло чувствительность. Линейность сохранялась до 1000 мг/дм³ включительно. Электрофоретическая подвижность аминокислот составила ($10^4 \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$): пролина – 3,1, треонина – 2,7, аргинина – 2,5.

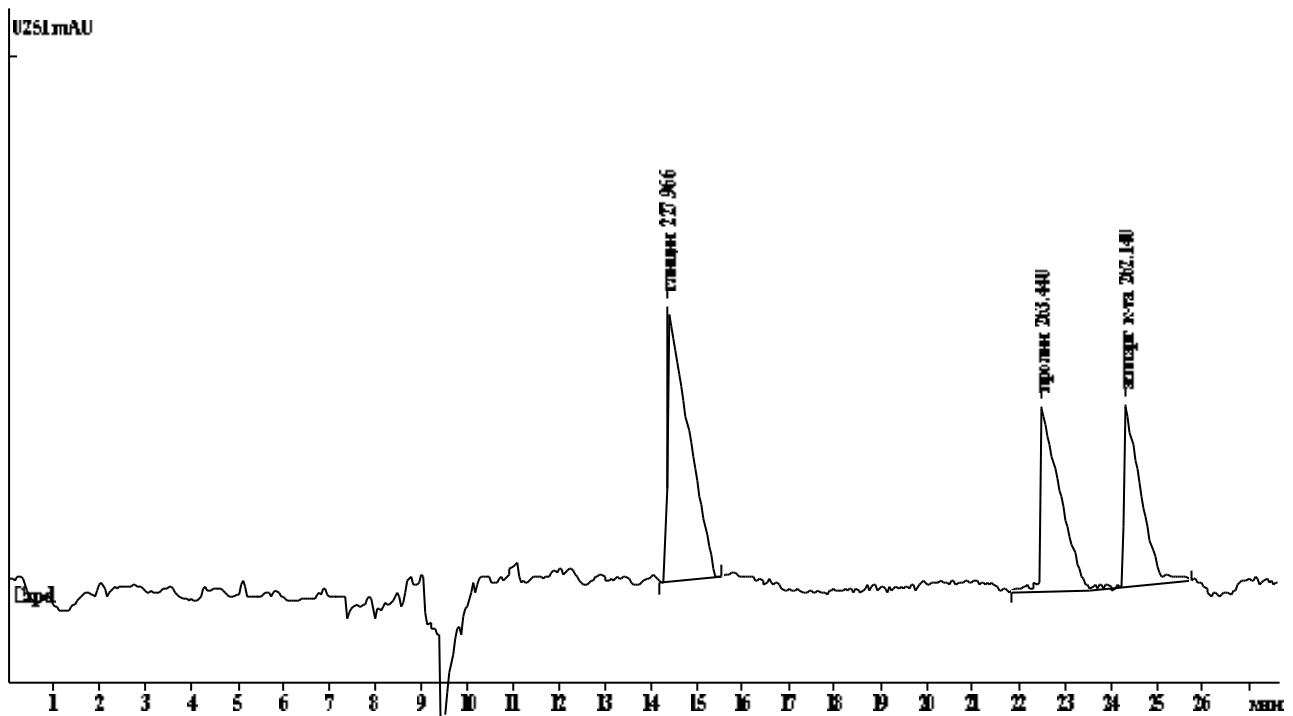
Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации, наблюдаемая в интервале концентраций 1–1000 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов, согласно программному обеспечению ПК. Полученное уравнение, например, для пролина имеет вид:

$$Y = 1,18783 X \quad (4)$$

где Y – отклик, X – концентрация пролина.

Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который составил для пролина 0,99994, что свидетельствует о возможности описания данных прямой.

В оптимизированных условиях анализа проведено исследование нескольких сотен проб: вино или виноматериал разбавляли в 2 раза дистиллированной водой, центрифугировали 3–5 минут при 6000 об^{-1} , переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мбар в течение 10 сек. Устанавливали время анализа 30 минут, положительное напряжение 8 кВ, сила тока составляла $65 \pm 8 \text{ мкА}$ (рисунок 33). Измерения реальных проб показали, что аминокислоты элюируются после положительно заряженных неорганических и органических катионов, углеводов и различных групп фенольных соединений.



pH электролита 3,5; положительное напряжение 8 кВ

Рисунок 33 – Электрофореграмма градуировочной смеси аминокислот
в оптимальных условиях анализа

В случае изменения времени миграции пиков аминокислот и сложности однозначной идентификации аминокислот в пробе применяют метод добавки вещества, идентификация которого затруднена. Установлена погрешность определения концентраций аминокислот (таблица 35).

Таблица 35 – Проверка правильности и воспроизводимости результатов определения аминокислот ($n = 5$, $P = 0,05$)

Аминокислота	Введено	Найдено, мг/дм ³	S_r , %
Пролин	5	4,9	2,2
	20	19,7	1,6
Треонин	10	9,9	3,6
	20	20,5	2,7
Аргинин	5	5,1	3,1
	20	20,2	2,0

Согласно таблице 35, S_r не превышает 4%, что свидетельствует о достаточной надежности разработанной методики.

Применение различных рас дрожжей для брожения, а также модифицированных вариантов технологий, приводит к искажению как содержания указанных аминокислот, так и появлению вторичных продуктов брожения, ответственных за органолептическую оценку. Знание исходного запаса исследуемых аминокислот в виноматериалах позволит оперативно изменять технологический процесс и таким образом управлять качеством продукции. В то же время наличие определенных концентраций исследуемых аминокислот в виноградных винах может служить одним из элементов их натуральности.

2.4.4 Разработка методики определения массовой концентрации фенилаланина, триптофана и тирозина

Контроль массовой концентрации фенилаланина, триптофана и тирозина в виноградных винах и виноматериалах важен для установления концентрации ценных биологически активных и ароматических веществ, определяющих органолептическую характеристику винодельческой продукции. Определение фенилаланина имеет значение ввиду вызываемой им сильнейшей аллергии у определенных категорий людей. Технологический запас аминокислот винограда претерпевает существенные изменения в процессе брожения, в результате которых изменяется их состав, и появляются вещества, которые отсутствовали в начальном сусле. В первую очередь, это относится к накоплению высших спиртов по одному из путей – это декарбоксилирование аминокислоты с образованием амина с последующим его дезаминированием и гидратированием в соответствующий спирт [33].

Второй путь – это гидролитическое дезаминирование аминокислоты, в результате чего образуются оксикислота и аммиак. Далее оксикислота, декарбоксилируясь и восстанавливаясь, переходит в соответствующий высший спирт. Таким образом, наличие аминокислот увеличивает содержание высших спиртов только до определенных пределов, но в то же время, несомненно их участие в реакциях синтеза высших спиртов. Качественный и количественный составы высших спиртов имеют существенное влияние на вкусовые достоинства вина. В результате превращений из фенилаланина получается 2-фенилэтанол, обладающий при разбавлении запахом роз и его ацетатный эфир, имеющий аналогичный более выраженный аромат. Порог восприятия обоих производных порядка долей мг/дм³, содержание в столовых винах и специальных технологий достигает нескольких десятков мг/дм³ [11]. Триптофан и тирозин участвуют в цикле трикарбоновых кислот. В результате превращений триптофана образуется никотиновая кислота (витамин PP); тирозина –

гидроксифенилэтиловый спирт (тирозол). Фенилаланин в организме человека превращается в тирозин и служит исходным веществом для синтеза некоторых гормонов, в том числе щитовидной железы. Тирозин является исходным веществом для синтеза гормонов щитовидной железы и обладает мощными стимулирующими свойствами, превращается в вещества, регулирующие давление крови. Триптофан подвергается сложным превращениям, в том числе образует никотиновую кислоту и серотонин, который регулирует сон, ослабляет развитие мигрени, укрепляет иммунную систему [302]. Отмечен дефицит триптофана во многих белках. Следует отметить, что описанной биологической активностью обладают только L-изомеры изучаемых аминокислот.

Контроль содержания аминокислот в настоящее время нормативно не регламентирован, хотя определенная необходимость в этом существует [278].

Установление условий анализа. Для проведения анализов использовали систему капиллярного электрофореза серии «Капель», оборудованную ультрафиолетовым детектором (254 нм), и кварцевый капилляр длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м. Детектирование аминокислот осуществляли прямым методом.

Калибровочные растворы 1, 5, 10, 20, 50, 100 мг/дм³ готовили на 16 (10)%-ном водном растворе этилового ректифицированного спирта из химически чистых препаратов фенилаланина, тирозина, триптофана. Перед каждым измерением капилляр в течение двух минут последовательно промывали 1Н соляной кислотой, дистиллированной водой, 1Н гидроокисью натрия и дистиллированной водой. После этого капилляр промывали рабочим электролитом в течение 2 мин. Режим промывки капилляра между анализами может быть изменен в случае сорбции на его стенках примесей из реальных проб.

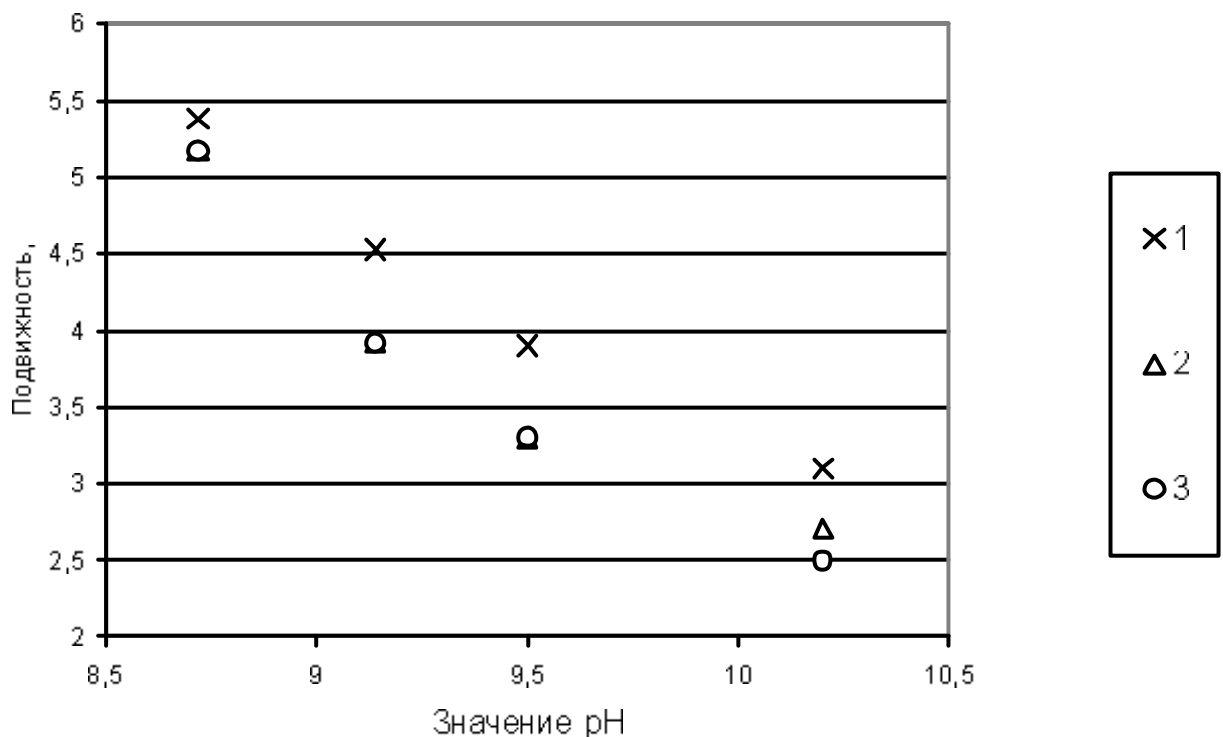
Оптимальное разделение модельной смеси получено для следующего состава электролита.

Раствор борной кислоты концентрацией 0,6%: 150 мг борной кислоты вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной

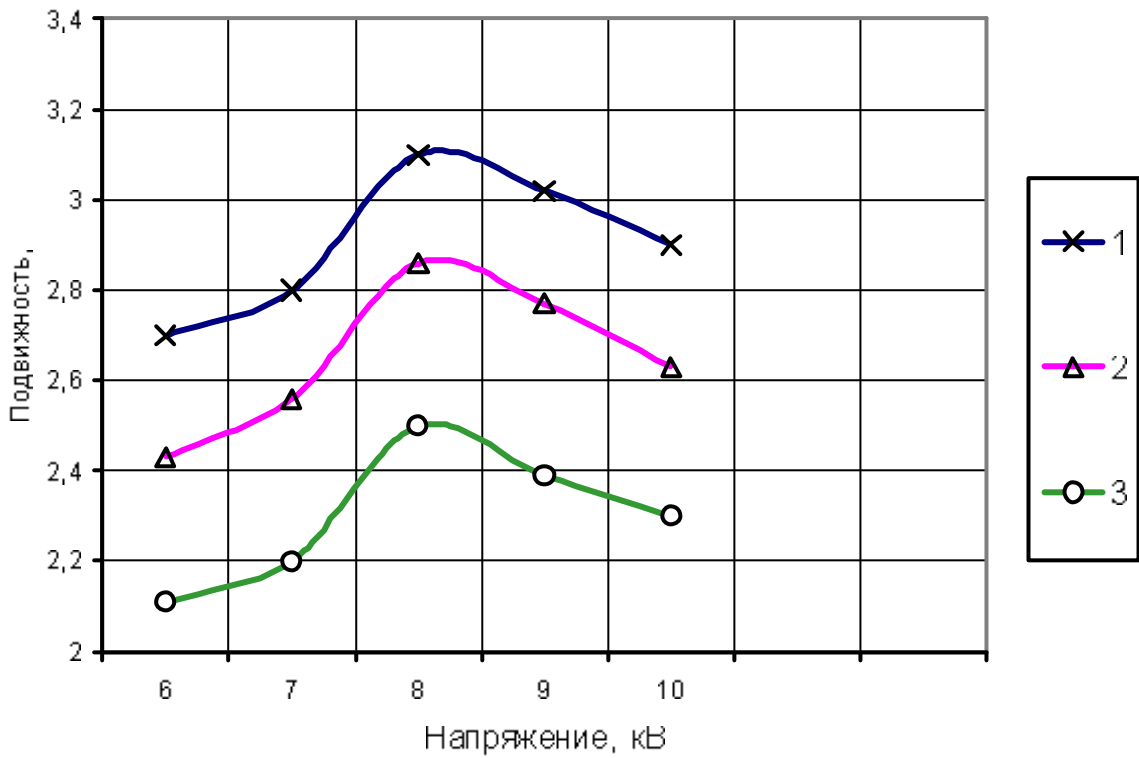
воды, растворяли при перемешивании, вносили 2 см³ 1Н гидроксида натрия, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³; рН – 10,2 (рисунок 34).

Срок хранения электролита – не более 5-ти суток при комнатной температуре. Последующие эксперименты показали, что дальнейшее увеличение рН приводило к значительному увеличению времени анализа, уменьшение рН не позволяло разделить триптофан и тирозин. При выбранном составе электролита была проведена оптимизация напряжения в ходе анализа (рисунок 35).

Оптимальное положительное напряжение для разделения модельной смеси, охарактеризованное подвижностью аминокислот, составило 8 кВ, что соответствует максимуму на рисунке 35. Подбор напряжения для выполнения определения при установленном рН электролита позволил регулировать длительность определения и в то же время обеспечить необходимое качество разделения.



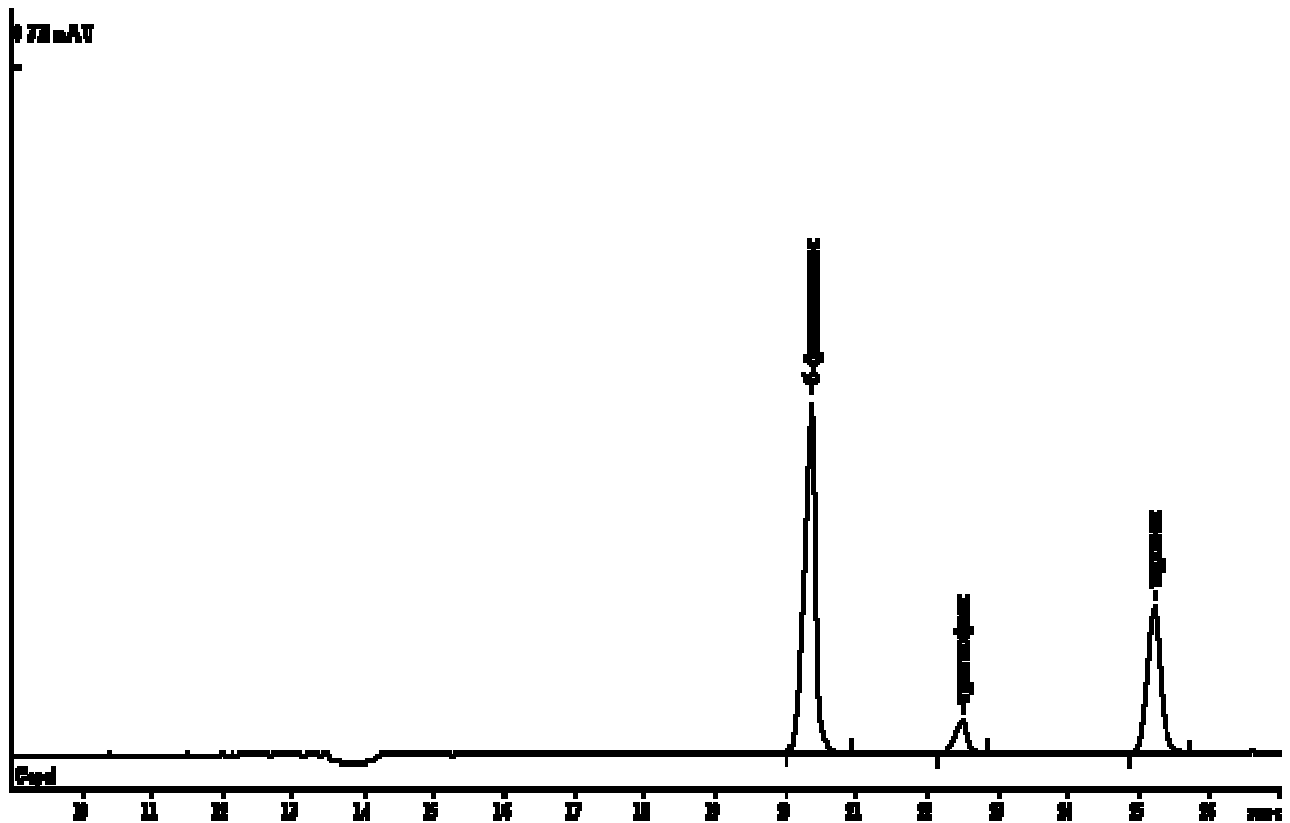
фенилаланин – 1, триптофан – 2, тирозин – 3,
в зависимости от значения рН электролита; положительное напряжение 8 кВ

Рисунок 34 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) аминокислот

фенилаланин – 1, триптофан – 2, тирозин – 3,
в зависимости от положительного напряжения, рН электролита – 10,2

Рисунок 35 – Наблюдаемая подвижность ($\times 10^{-4}$) аминокислот

Данные рисунков 34 и 35 показали, что для разделения указанной смеси аминокислот принципиальное значение имеет показатель рН электролита. Ориентировочное время выхода аминокислот при рН 10,2 и положительном напряжении 8 кВ: фенилаланин – 20 мин, триптофан – 23 мин, тирозин – 25 мин. Число теоретических тарелок для каждого компонента составило 75–80 тысяч. Электрофореграмма градуировочной смеси аминокислот показана на рисунке 36.



рН электролита 10,2, положительное напряжение 8 кВ

Рисунок 36 – Электрофореграмма градуировочной смеси аминокислот
в оптимальных условиях анализа

Коэффициенты чувствительности относительно фенилаланина (1,0) составили для триптофана 9,0; для тирозина – 1,7. В связи с этим порог чувствительности по фенилаланину и тирозину составил 0,5 и 1,0 мг/дм³, для триптофана – 3,0 мг/дм³. Линейность сохранялась до 1000 мг/дм³ включительно. Электрофоретическая подвижность аминокислот составила ($10^4 \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$): бэта-фенилаланина – 3,1, триптофана – 2,7, тирозина – 2,5. При выборе напряжения руководствовались значением максимально допустимого тока на приборе и длительностью анализа.

Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации, наблюдаемая, например для тирозина в интервале концентраций 1–1000 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программному обеспечению ПК. Полученное уравнение имеет вид:

$$Y = 1,18766 X \quad (5)$$

где Y – отклик, X – концентрация тирозина.

Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который составил 0,99992, что свидетельствует о возможности описания данных прямой.

Идентификацию аминокислот проводили по времени удерживания и методом добавки. В оптимизированных условиях анализа проведено исследование реальных проб: вино или виноматериал разбавляли двукратно дистиллированной водой, центрифугировали 3–5 минут при 6000 об⁻¹, переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мбар в течение 10 сек. Устанавливали время анализа 30 мин, положительное напряжение 8 кВ, сила тока составляла 65±8 мкА. Аминокислоты элюируют после пиков фурфурала, метилфурфурала, оксиметилфурфурала, 2-фенилэтанола, коричневого альдегида среди группы пиков этиловых и метиловых эфиров коричной, сиреневой, ванилиновой кислот, ароматических альдегидов и спиртов; не мешают определению глюкоза, фруктоза, красящие вещества, катионы металлов и отрицательно заряженные ионы. Анализируемую пробу дозируют не менее двух раз и регистрируют электрофореграммы для каждого дозирования. В случае соизмеримых размеров пиков и сложности однозначной идентификации аминокислот в пробе вина применяют метод добавки вещества, идентификация которого затруднена. Установлена погрешность определения концентраций аминокислот (таблица 36).

Таблица 36 – Проверка правильности и воспроизводимости результатов определения аминокислот ($n = 5$, $\alpha = 0,05$)

Аминокислота	Введено	Найдено, мг/дм ³	S _x , %
Фенилаланин	5	4,9	2,2
	20	19,7	1,6
Триптофан	10	9,9	3,6
	20	20,5	2,7
Тирозин	5	5,1	3,1
	20	20,2	2,0

Установление массовой концентрации исследуемых аминокислот в винах позволит оперативно управлять технологическим процессом и влиять на качество продукции. Найденные концентрации аминокислот в виноградных винах могут служить одним из показателей их натуральности.

2.4.5 Электрофоретическое определение углеводов

На долю углеводов приходится около 80% сухого вещества растений и плодов. Углеводы синтезируются всеми зелеными растениями, изучение компонентного состава углеводов способствует раскрытию физиолого-биохимических механизмов адаптации растений к стрессам окружающей среды. Синтез углеводов и их содержание напрямую связаны с урожайностью, потребительским качеством ягод, плодов и винограда.

Аналитическая информация о компонентном составе углеводов в плодах, винограде и продуктах их переработки, как правило, ограничивается интегральными показателями, нередко носящими расчетный характер; иногда с целью идентификации продукта применяют ферментативный способ анализа, позволяющий регистрировать оптические изомеры углеводов.

Практикуемые методы определения углеводов условно можно разделить на две группы – физические и химические. Среди химических методов анализа широко известны фотокалориметрические методики количественного определения сахаров: реакция с пикриновой кислотой (по Крезелиус-Зейферт); с 3,5-динитросалициловой кислотой; антроновый метод определения сахаров (по Моррису-Роз), тонкослойной хроматографии, газовой хроматографии или хромато-масс-спектрометрии, ферментативного анализа, ВЭЖХ и КЭ. Вполне перспективными для количественного определения углеводов представляются разработка и модификация методик с использованием КЭ [258, 259].

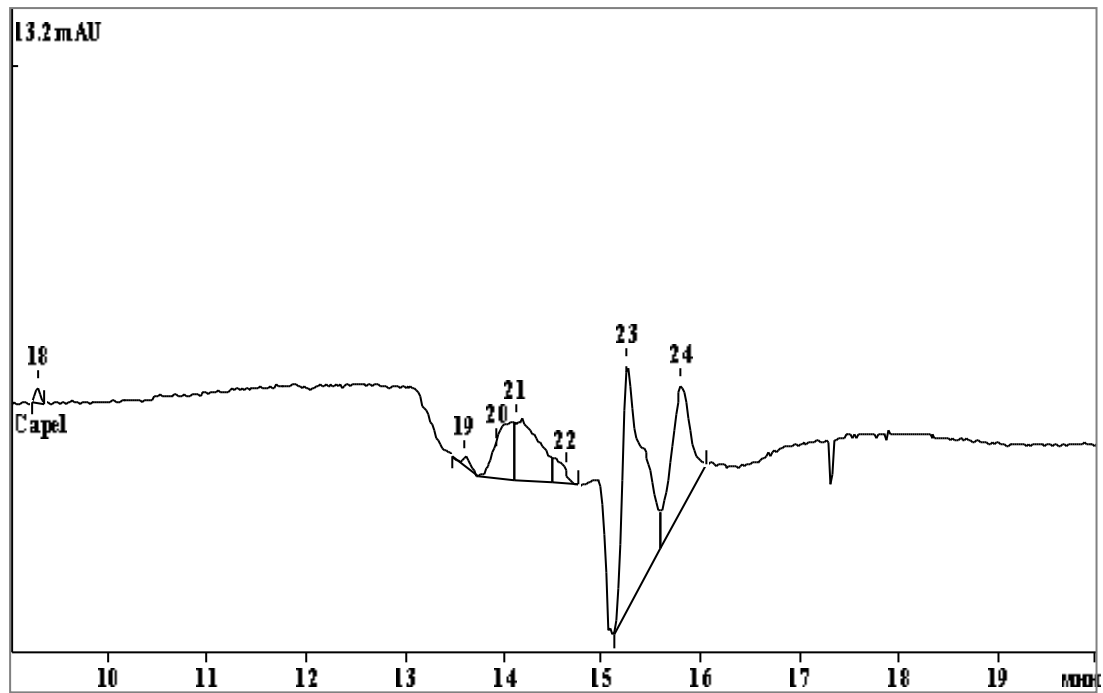
Для оптимизации разделения и количественного определения массовой концентрации глюкозы, сахарозы и фруктозы, основываясь на имеющейся информации, применяли систему капиллярного электрофореза серии «Капель», УФ-детектор (254 нм), источник питания отрицательного напряжения, кварцевый капилляр эффективной длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром $75 \cdot 10^{-6}$ м, косвенное детектирование и несколько вариантов ведущего электролита [305, 306].

Установление режима анализа. Литературные данные [258] позволили предложить для изучения ведущий электролит, содержащий сорбат калия (обеспечение регистрации компонентов), ЦТАБ – модификатор электролита, обеспечивающий разделение компонентов и гидроокись калия, регулирующая pH среды. Для разделения углеводов необходим щелочный pH около 9 единиц; при этих условиях образуются ионные формы, дающие возможность разделения и идентификации. Благодаря тестовым испытаниям предложены следующие условия анализа: отрицательное напряжение 16 кВ, пневматическое дозирование

пробы – 30 мБар – 5 секунд. Первый этап поиска состава ведущего электролита показан в таблице 37. Данные таблицы 37 показали, что улучшить разделение фруктозы, глюкозы, сахарозы и повысить чувствительность метода за счет увеличения концентрации сорбата калия не удалось. На рисунке 37 показан пример электрофореграммы, демонстрирующий установленные недостатки условий анализа.

Таблица 37 – Поиск состава ведущего электролита, составляющие показаны из расчета на общий объем 5 см³

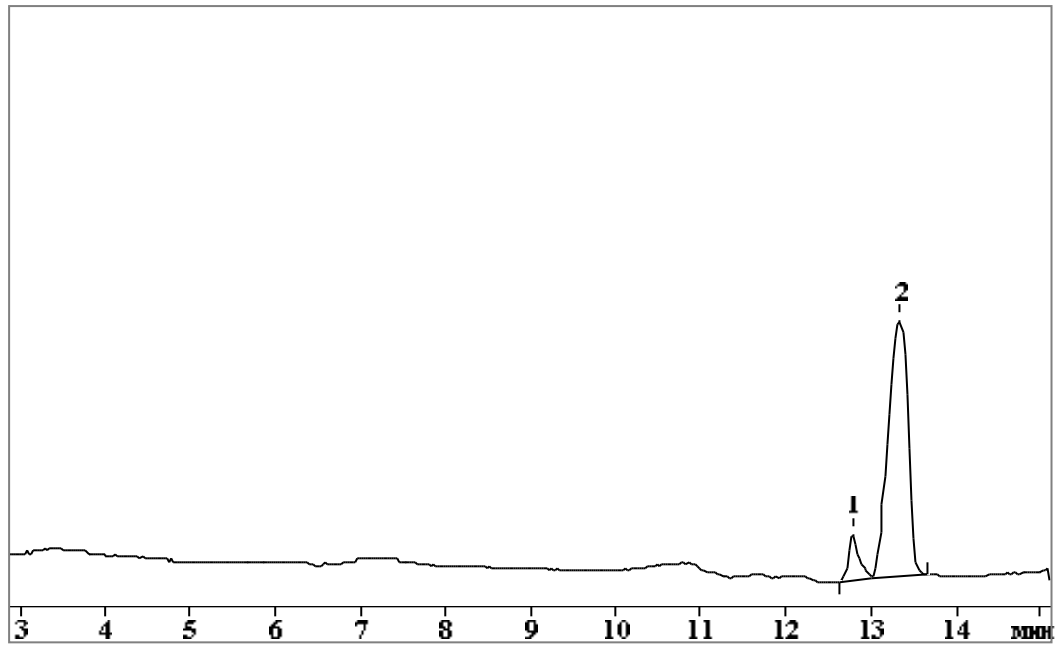
№	Наименование ингредиента и его дозировка, мг			Интерпретация результатов
	сорбат калия	ЦТАБ	КОН, 1% водный раствор, мм ³	
1	35	15	40	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9121, предел обнаружения 1000 мг/дм ³ . Суммарное время анализа 18 мин
2	60	19	20	Максимально допустимый ток в ходе анализа 90 мкА, пиков разделяемых компонентов нет
3	30	9	10	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9027, предел обнаружения 800 мг/дм ³ . Суммарное время анализа 16 мин
4	15	4,5	5	Время анализа 13 мин, сепарация отсутствует
5	35	15	40	Непосредственно в анализируемую смесь добавили сначала раствор борной кислоты 1:10 (10 г/дм ³), затем КОН, улучшения разделения не обнаружено
6	20	20	20	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9689, предел обнаружения 400 мг/дм ³ . Время анализа 8 мин. Может быть использован для определения суммарного содержания сахаров, отрицательное напряжение 16 кВ
7	20	20	20	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9825, предел обнаружения 700 мг/дм ³ . Суммарное время анализа 18 мин. Отрицательное напряжение увеличено до 23 кВ



режим анализа № 3 из таблицы 37; пики 20 – фруктоза, 21 – глюкоза,
22 – сахароза, отрицательное напряжение 16 кВ

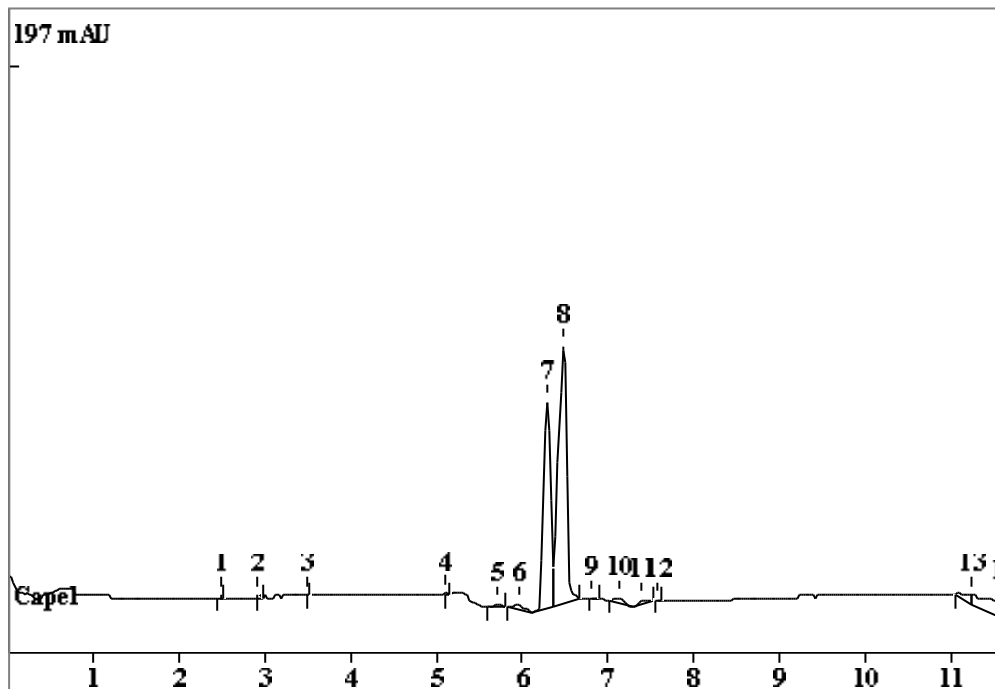
Рисунок 37 – Электрофореграмма смеси углеводов, концентрация по 5 г/дм³

В результате повышения ионной силы ведущего электролита только увеличивалось время анализа и резко возрастал ток, приближаясь к максимально допустимому на приборе. Эксплуатация прибора в условиях анализа, близким к критическим параметрам, является недопустимой ввиду возможности его повреждения. Варьирование концентраций КОН также не привело к положительным результатам. Проведенные эксперименты позволили установить необходимость тщательной промывки капилляра перед каждым анализом пробы – ослабление режима промывки приводило к загрязнению капилляра и его выходу из строя. Тем не менее, были подобраны условия определения суммарного содержания углеводов, без разделения компонентов, что может быть использовано в некоторых упрощенных анализах биообъектов. Примеры электрофореграмм показаны на рисунках 38 и 39.



режим № 6 из таблицы 37; 1 – сумма углеводов, 2 – системный пик;
наблюдаемая электрофоретическая подвижность пика № 1
составила $2,46 (x10^{-4}) \text{ см}^2/\text{В сек}$

Рисунок 38 – Электрофореграмма смеси углеводов



режим № 7 из таблицы 37; 7 – сумма углеводов, 8 – системный пик;
наблюдаемая электрофоретическая подвижность пика № 7
составила $3,47 (x10^{-4}) \text{ см}^2/\text{В сек}$

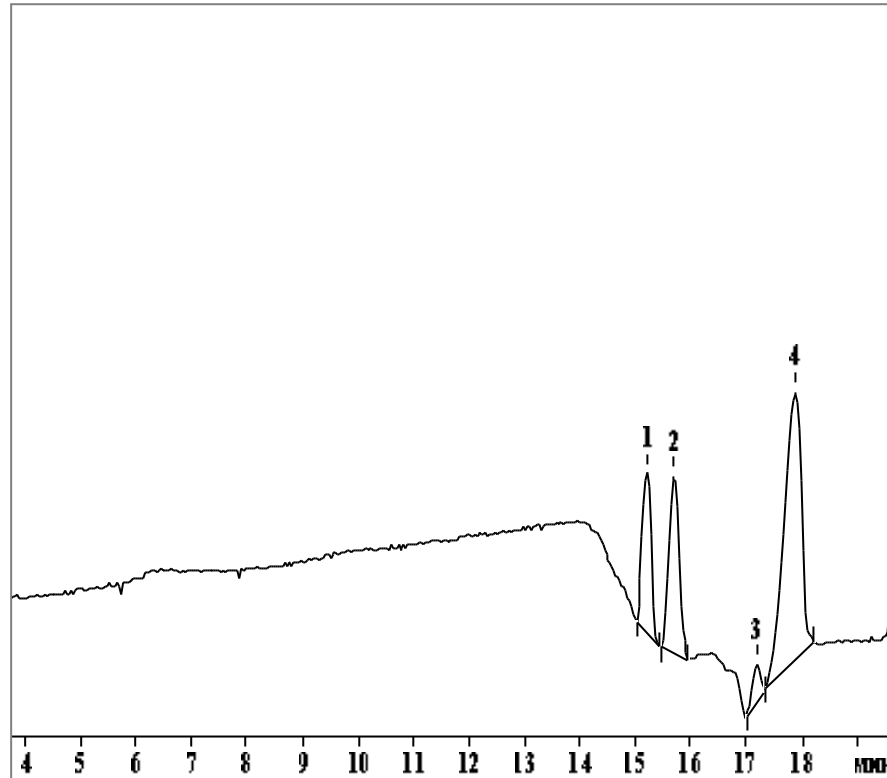
Рисунок 39 – Электрофореграмма смеси углеводов

Режим № 6 (таблица 37) может быть использован для количественного определения суммарного содержания углеводов по предварительно подготовленной градуировочной смеси фруктозы, глюкозы и сахарозы (или без одной из этих составляющих) с учетом информации о качественном содержании углеводов в испытуемом образце. Режим № 7 (таблица 37) обеспечивает более высокую экспрессность определения, однако неполное разделение суммарного пика углеводов от системного пика ведущего электролита будет служить причиной искажений результатов количественного анализа. Второй этап поиска был основан на введении в состав ведущего электролита органических модификаторов – этанола и цетил-триметил-аммоний основания (ЦТА-ОН) (таблица 38).

Таблица 38 – Модификация состава ведущего электролита с применением органических компонентов, дозировки показаны из расчета на общий объем 5 см³

№	Наименование ингредиента и его дозировка, мг			Интерпретация результатов
	сорбат калия	ЦТА-ОН	этанол, см ³	
1	20	22	0	Отсутствие сепарации
2	20	22	0,1	Коэффициент разделения фруктозы, глюкозы 0,45, время анализа 15 мин
3	30	12	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9027, предел обнаружения 1200 мг/дм ³ . Суммарное время анализа 18 мин
4	30	12	0,1	Коэффициент разделения фруктозы, глюкозы 0,49, время анализа 17 мин
5	30	26	0	Коэффициент разделения фруктозы, глюкозы 0,52, время анализа 19 мин
6	50	40	0	Отсутствие положительного сигнала.
7	30	40	0	Коэффициент деления фруктозы, глюкозы 0,89, время анализа 18 мин. Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9776, предел обнаружения 300 мг/дм ³

Данные таблицы 38 показали наличие положительного эффекта при введении ЦТА-ОН вместо ЦТАБ – улучшилось качество разделения компонентов, но в целом этого было недостаточно для корректного количественного анализа. На рисунке 40 показан пример электрофореграммы, демонстрирующий недостатки условий анализа.



режим № 3 из таблицы 38; 1 – фруктоза, 2 – глюкоза+сахароза

Рисунок 40 – Электрофореграмма смеси углеводов

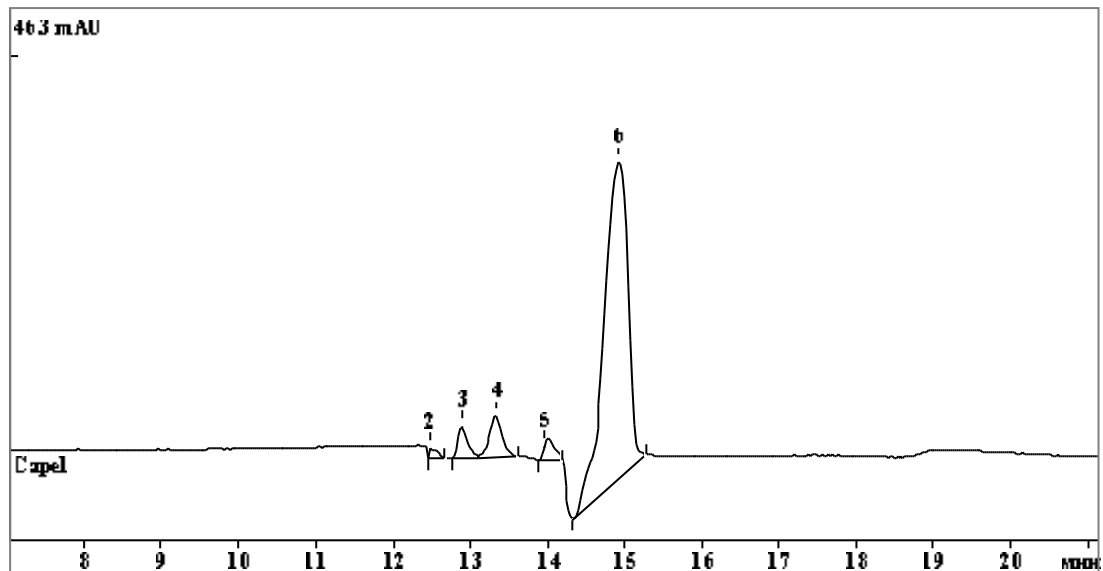
Третий этап поиска был основан на введении в состав ведущего электролита многоатомного спирта, например, глицерина для уменьшения проводимости среды и соответственно возможности увеличения концентрации активных компонентов ведущего электролита (таблица 39).

Таблица 39 – Модификация состава ведущего электролита, ингредиенты показаны из расчета на общий объем 5 см³, отрицательное напряжение 16 кВ

№	Наименование ингредиента и его дозировка, мг			Интерпретация результатов
	сорбат калия	ЦТА-ОН	глицерин	
1	20	50	20	Мешают гликоли и глицерин, сахароза мигрирует на склоне – 13–15 мин, для оценки непригодны из-за погрешности расчета пиков, коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,8827, предел обнаружения 850 мг/дм ³
2	20	50	80	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9897, предел обнаружения 200 мг/дм ³ . Установлена линейность до 10 г/дм ³ , время анализа 16 мин, гликоли не мешают. Удовлетворительно выполнен анализ сока, вина
3	20	26	70	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9623, предел обнаружения 400 мг/дм ³ . Установлена линейность до 10 г/дм ³ . Глицерин улучшает качество деления – разделения пар – 0,89, позволяет работать при большой ионной силе растворов

Данные таблицы 39 свидетельствуют о положительном влиянии добавки глицерина в состав ведущего электролита, что положительно сказалось на качестве разделения компонентов и в целом было достаточно для корректного количественного анализа.

На рисунке 41 показан пример электрофореграммы, демонстрирующий особенности условий анализа.



режим № 2 из таблицы 39;
3 – фруктоза, 4 – глюкоза, 5 – сахароза, 6 – системный пик

Рисунок 41 – Электрофореграмма смеси углеводов

Для условий режима 2 из таблицы 39 была проверена стабильность времени миграции пиков аналитов, что оказывает непосредственное влияние на количественный анализ (таблица 40).

Таблица 40 – Изменение миграция (мин) аналитов на одной порции ведущего электролита в зависимости от числа дозирования пробы

Порядковый номер дозирования	Фруктоза	Глюкоза	Сахароза
1	8,79±0,02	8,96±0,02	9,25±0,02
2	8,85±0,02	9,02±0,02	9,29±0,02
3	8,96±0,02	9,11±0,02	9,38±0,02
4	9,06±0,02	9,20±0,02	9,48±0,02
5	9,16±0,02	9,31±0,02	9,60±0,02

Изменение миграции пиков для определяемых компонентов (сравнение 5-го повтора с первым) не превышало 3–4%. Результаты количественного анализа 5-го повтора для фруктозы и глюкозы не превышали 1%, тогда как для сахарозы достигли 7%, что уже свидетельствует о нестабильности количественного анализа сахарозы. Данные таблицы 40 свидетельствуют о необходимости замены раствора ведущего электролита после 4-х результативных измерений в данных условиях

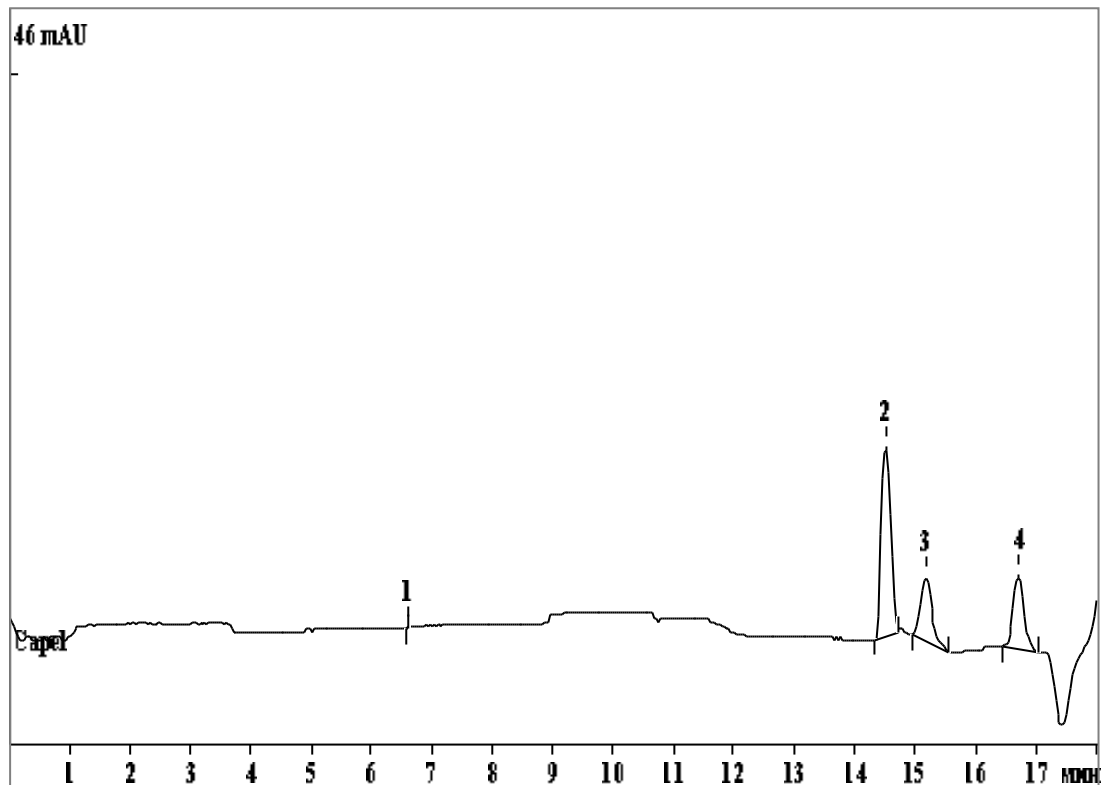
анализа. Общее замечание для растворов ведущего электролита – не подлежит хранению более 24 часов с момента приготовления.

Четвертый этап поиска был основан на введении в состав ведущего электролита дополнительно к глицерину раствора гидроокиси калия. Гидроокись калия добавлена для улучшения перевода углеводов в ионную форму и для увеличения электропроводимости среды, что должно было повысить чувствительность метода (таблица 41).

Таблица 41 – Модификация ведущего электролита,
ингредиенты показаны из расчета на общий объем 5 см³

№	Наименование ингредиента и его дозировка, мг				Интерпретация результатов
	сорбат калия	ЦТА-ОН	глицерин	1%-ный раствор КОН, см ³	
1	20	30	200	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9524, предел обнаружения 600 мг/дм ³ . Время анализа 14–16 мин, асимметрия пика фруктозы – 0,58
2	20	30	160	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9228, предел обнаружения 600 мг/дм ³ , линейность до 8 г/дм ³ , время анализа 15 мин
3	20	30	160	0,08	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9895, предел обнаружения 100 мг/дм ³ , линейность до 10 г/дм ³ , качество деления – разделения пар – 0,98, время анализа 14 мин
4	20	32	180	0,1	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9597, предел обнаружения 300 мг/дм ³ , линейность до 9 г/дм ³ , время анализа 16 мин
5	22	40	150	0,08	Коэффициент корреляции градуировочной характеристики 0,9763, предел обнаружения 200 мг/дм ³ , линейность до 8 г/дм ³ , качество деления – разделения пар – 0,87, время анализа 14 мин

Можно отметить практически идеальные условия анализа модельной смеси на данном варианте ведущего электролита. Подобран вариант №3 (таблица 41), пригодный для количественных измерений в реальных объектах. Недостаток растворов ведущего электролита – не подлежит хранению более 24 часов с момента приготовления. На рисунке 42 показан пример электрофореграммы, демонстрирующей особенности условий анализа.



режим № 3 из таблицы 41;
пики на рисунке: 2 – фруктоза, 3 – глюкоза, 4 – сахароза

Рисунок 42 – Электрофореграмма смеси углеводов

Оптимальное разделение сахаров получено при использовании режима № 3 из таблицы 41. Далее для обоснования ионной силы раствора и стабильности работы ведущего электролита были проведены эксперименты по влиянию добавки раствора едкого калия, оказывающего основное влияние на разделение компонентов (рисунок 43). Параметром контроля качества разделения углеводов выбрана их электрофоретическая подвижность.

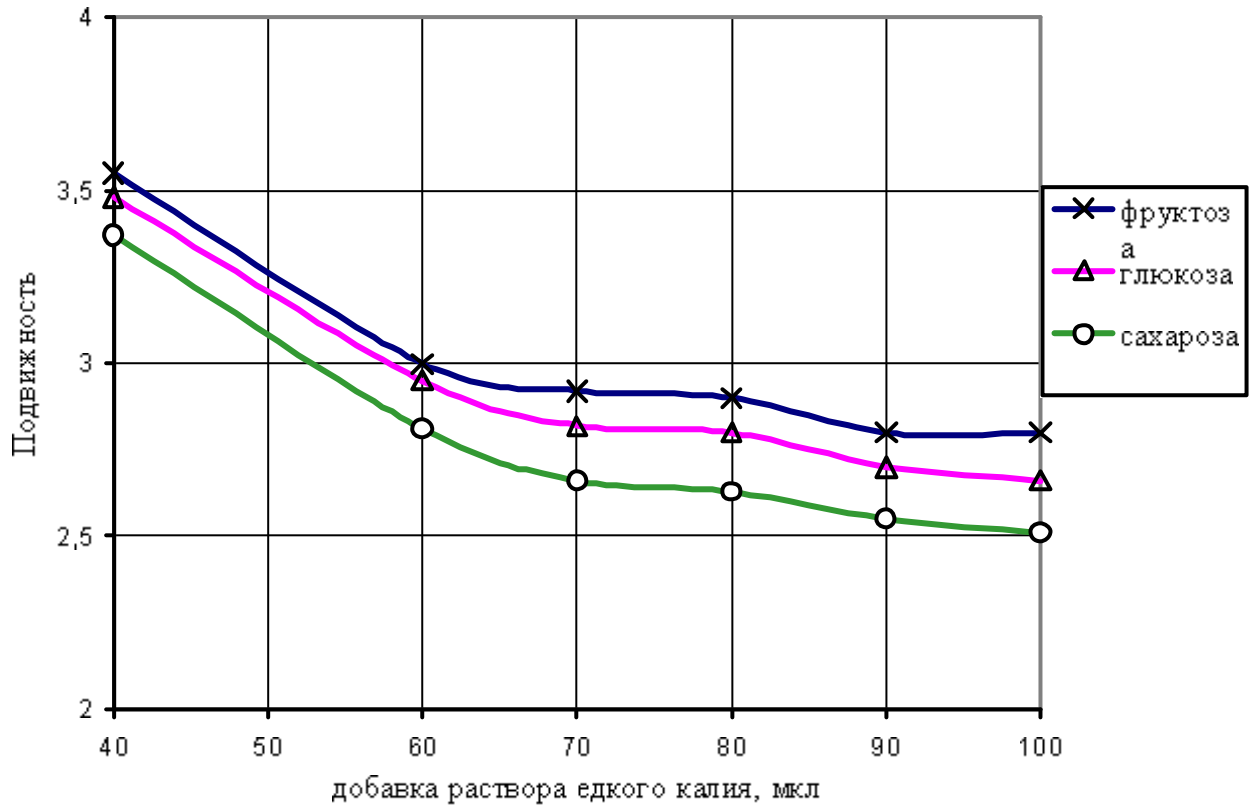


Рисунок 43 – Наблюдаемая электрофоретическая подвижность углеводов ($\times 10^{-4}$), $\text{см}^2/(\text{В}\cdot\text{с})$ в зависимости от дозировки едкого калия (мм^3 1%-ного водного раствора) в ведущем электролите, отрицательном напряжении 16 кВ; для режима №3 (таблица 41)

Данные рисунка 43 показали, что добавка 60–80 мм^3 1%-ного раствора едкого калия обеспечивает и различие подвижностей углеводов и в то же время их постоянное значение, что важно для количественного анализа. Таким образом, режим 3 из таблицы 41 может быть рекомендован как оптимальный.

2.4.6 Установление метрологических характеристик методики выполнения измерений углеводов

Установление диапазона измерений и предела чувствительности определения углеводов. В данном разделе представлены результаты оценки качества анализа образцов с возможностью установления диапазона измерений и предела чувствительности разрабатываемой методики. Первоначально исследования выполнены на пробах вина (таблица 42).

Таблица 42 – Сравнительный анализ содержания углеводов десертного и столового вина

Компонент	Вино с сахаристостью 160 г/дм ³ , разбавление 10	Вино с сахаристостью 160 г/дм ³ , разбавление 50	Сухое вино, с сахаристостью 2 г/дм ³ , разбавление 20	Сухое вино, с сахаристостью 2 г/дм ³ , разбавление 5
Фруктоза	340 (реальная концентрация 8 г, искажение в 4 раза)	90 (реально измерено 2 г)	Не обнаружена	1,0
Глюкоза	102 (реальная концентрация 8 г – искажение 1,25 раза)	67 (реально измерено 2 г)	Не обнаружена	1,1
Сахароза	Не обнаружена	Не обнаружена	Не обнаружена	Не обнаружена

Для исследований использовали виноградное вино с общей сахаристостью 160 г/дм³, при разбавлении 10 – получен некорректный завышенный результат анализа, реальная концентрация, подвергнутая измерению, составляла по 8 г/дм³ углеводов.

Анализ реальной пробы вина показал, что верхняя достоверная граница измеряемых концентраций углеводов составляет 5 г/дм³. Для более высоких значений концентраций наблюдаются нелинейные искажения результатов.

Полученные результаты позволили предположить, что для достижения достоверных данных суммарная концентрация углеводов в образце должна быть не более 5 г/дм^3 , что обеспечивает нижний предел чувствительности не менее 0,1.

Проверка качества выполнения измерений. Качество выполнения измерений концентрации определяемого компонента оценивали на основе 20 результатов измерений образцов для градуировки, полученных случайным образом в течение контролируемого периода в условиях внутрилабораторной прецизионности. То есть результаты измерений образцов для градуировки получали в одной лаборатории в разное время, разные операторы, используя разные средства измерений одного типа, разные партии реактивов одного типа. Образцы для градуировки представляли собой смеси определяемых компонентов (таблица 43).

Таблица 43 – Образцы для градуировки по определяемым веществам, г/дм^3

№ образца для градуировки	Определяемые вещества		
	фруктоза	глюкоза	сахароза
1	0,05	0,05	0,05
2	0,5	0,5	0,5
3	1	1	1
4	2	2	2
5	5	5	5

Для проверки подконтрольности смеси отбирают таким образом, чтобы содержание определяемого компонента в образцах для градуировки соответствовало нижней и верхней границам, а также середине диапазона установления градуировочной характеристики. Результаты измерений определяемого компонента в образцах для градуировки показаны в таблице 44.

Результаты градуировки признаны положительными, что позволило перейти к планированию эксперимента по оцениванию показателей качества методики измерений определяемого компонента в пробах анализируемого объекта.

Таблица 44 – Результаты измерений определяемого компонента
в образцах для градуировки, г/дм³

№	Номер образца для градуировки								
	фрук-тоза	глюкоза	сахара-роза	фрук-тоза	глюкоза	сахара-роза	фрук-тоза	глюкоза	сахара-роза
	1			3			5		
	Аттестованное значение образца для градуировки, г/дм ³								
	0,05	0,05	0,05	1	1	1	5	5	5
Результаты измерений, г/дм ³									
1	0,06	0,055	0,045	0,95	0,95	1,0	4,7	4,9	5,2
2	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1
3	0,055	0,055	0,045	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	5,2
4	0,05	0,055	0,06	0,95	1,0	1,05	4,8	4,9	4,7
5	0,055	0,05	0,055	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	4,8
6	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1
7	0,055	0,055	0,045	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	5,2
8	0,05	0,055	0,06	0,95	1,0	1,05	4,8	4,9	4,7
9	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1
10	0,055	0,055	0,045	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	5,2
11	0,05	0,055	0,06	0,95	1,0	1,05	4,8	4,9	4,7
12	0,06	0,055	0,045	0,95	0,95	1,0	4,7	4,9	5,2
13	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1
14	0,055	0,055	0,045	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	5,2
15	0,05	0,055	0,06	0,95	1,0	1,05	4,8	4,9	4,7
16	0,055	0,05	0,055	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	4,8
17	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1
18	0,055	0,055	0,045	0,9	1,0	0,95	4,8	4,9	5,2
19	0,05	0,055	0,06	0,95	1,0	1,05	4,8	4,9	4,7
20	0,065	0,05	0,055	0,95	0,9	0,95	4,9	4,7	5,1

Для оценивания показателей качества методики применяли наборы образцов в виде однородных и стабильных по составу рабочих проб испытуемых объектов. Качество методики измерений определяемого компонента оценивали на основе результатов контрольных измерений образцов для оценивания, полученных 3 операторами лаборатории. Образцы для оценивания представляют собой рабочие пробы анализируемого по методике объекта.

Образец № 1 – вино типа портвейна (общий сахар – 110 г/дм³).

Образец № 2 – полусладкое вино (общий сахар – 9,5 г/дм³).

Образец № 3 – полусухое вино (общий сахар – 4,1 г/дм³).

Отобранную пробу каждого из трех образцов разделили на 3 равные части и выполнили анализ в пяти повторах тремя операторами

Результаты оценивания образцов приведены в таблице 45. Основные метрологические показатели метода определения массовых концентраций углеводов показаны в таблице 46.

Для эффективного количественного анализа использовали раствор ведущего электролита следующего состава: 4 г/дм³ сорбата калия, 8 г/дм³ 10% водного раствора цетил-триметил-аммоний-основания (ЦТА-ОН), 36 г/дм³ глицерина, 0,16 г/дм³ гидроокиси калия. Срок хранения ведущего электролита не более суток. Ведущий электролит готовили в количестве, обеспечивающем потребности рабочего дня. Рекомендуемое отрицательное напряжение 16 кВ, время анализа 20 минут.

Таблица 45 – Результаты измерений содержаний

определяемого компонента в образцах для оценивания правильности методики

№	Вино типа портвейн			Полусладкое вино			Полусухое вино		
	глю-коза	фрук-тоза	сахара-роза	глю-коза	фрук-тоза	сахара-роза	глю-коза	фрук-тоза	сахара-роза
Результаты измерений, г/дм ³									
1	39,6	40,5	0,1	4,4	4,6	0,2	2,0	1,8	0,2
2	40,2	40,3	0,1	4,3	4,4	0,2	2,1	2,1	0,1
3	40,1	41,1	0,1	4,3	4,5	0,2	2,0	2,2	0,2
4	40,5	41,4	0,1	4,6	4,8	0,2	2,1	2,1	0,1
5	40,6	40,3	0,1	4,5	4,7	0,2	2,2	2,0	0,1
6	40,2	40,1	0,1	4,3	4,4	0,2	2,1	2,1	0,1
7	40,1	41,1	0,1	4,3	4,5	0,2	2,0	2,2	0,1
8	40,7	41,4	0,1	4,6	4,8	0,2	2,1	2,1	0,1
9	41,0	40,4	0,1	4,5	5,0	0,2	2,0	2,4	0,1
10	41,1	38,9	0,1	4,4	4,7	0,2	2,1	2,1	0,1
11	41,0	39,5	0,1	4,3	4,4	0,2	2,1	2,1	0,1
12	41,6	41,4	0,1	4,6	4,8	0,2	2,1	2,1	0,1
13	41,2	39,9	0,1	4,5	4,7	0,2	2,2	2,0	0,1
14	41,7	39,6	0,1	4,3	4,5	0,2	2,0	2,2	0,1
15	41,4	41,4	0,1	4,6	4,8	0,2	2,1	2,1	0,1

Таблица 46 – Показатели прецизионности метода определения

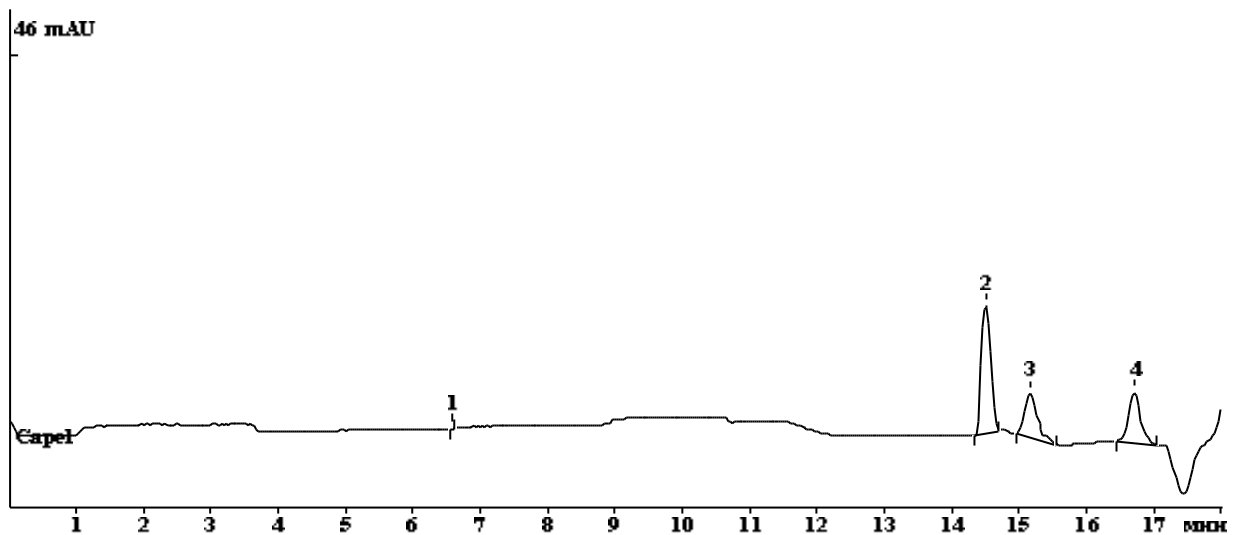
массовых концентраций углеводов

Диапазон измерений, г/ дм ³	0,1–5
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	6
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R , %	14
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %, $P = 0,95$, $n = 2$	10
Предел воспроизводимости, R , %, $P = 0,95$, $n = 2$	22
Границы относительной погрешности при вероятности, $\pm\delta$, %, $P = 0,95$, $n = 2$	18

Пробу вина разбавляли в 2–50 раз (в зависимости от ожидаемого суммарного содержания углеводов), при необходимости фильтровали, центрифугировали 3–5 мин при 6000 об⁻¹, переносили в прибор и производили дозирование пробы пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 5 секунд.

Ориентировочное время миграции углеводов в предлагаемых условиях анализа: глюкозы – 15,2, сахарозы – 16,2, фруктозы – 14,5 минут. Диапазон измеряемых значений массовых концентраций составил 0,1–5,0 г/дм³.

Пример разделения модельной смеси углеводов в оптимальных условиях анализа показан на рисунке 44.



2 – фруктоза, 3 – глюкоза, 4 – сахароза

Рисунок 44 – Электрофореграмма модельной смеси

Проведенные исследования показывают, что количественному определению углеводов не мешают фенольные соединения, аминокислоты, анионы, органические кислоты, глицерин и изомеры бутиленгликоля. По результатам проведенных исследований разработана, метрологически аттестована и внедрена методика выполнения измерений массовой концентрации углеводов в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза (Приложение А-5).

2.5 Установление критериев и подходов комплексной идентификации натуральности вина

Для установления качества виноградного вина, согласно директивам МОВВ, используют ряд традиционных химических показателей – объемной доли этилового спирта, массовой концентрации связанных кислот, титруемых кислот, приведенного экстракта – с последующим вычислением их соотношений [14].

2.5.1 Идентификация натуральности вина по электрофоретическому профилю содержания калия

Разработанные аналитические методики определения компонентов и анализ базовых многолетних результатов позволили установить некоторые критерии и подходы комплексной идентификации натуральности вина. В частности, предусматривается КЭ пробы вина с получением электрофоретического профиля, проведение анализа профиля по выборке анализируемого компонента и определение качества вина путем сравнения с установленным интервалом массовой концентрации этого компонента, определяющим качество вина. При анализе КЭ-профиля в качестве анализируемого компонента использована массовая концентрация калия с диапазоном содержания, определяющего качество вина. Дополнительно в пробе вина определяют зольность, рассчитывают соотношение зольности к массовой концентрации калия, а определение качества вина ведут по сравнению массовой концентрации калия и соотношения зольности к массовой концентрации калия, находящихся соответственно в интервале 400–1100 мг/дм³ и 1,8:1 – 2,2:1 [307, 308].

Проведенные эксперименты позволили установить, что по массовой концентрации калия можно оценивать качество вина. Для подтверждения этого вывода было проведено электрофоретическое исследование образцов виноградных вин высокого и сомнительного качества. Был найден уточненный интервал варьирования массовой концентрации калия, находящийся в пределах 400–1100 мг/дм³ в качественных натуральных винах, и установлено, что за этим пределом присутствуют некачественные и фальсифицированные вина. Экспериментально при исследовании не менее 100 образцов виноградного вина каждой категории было установлено, что по массовой концентрации калия можно оценить качество виноградного вина (таблица 47).

Таблица 47 – Интервал варьирования массовой концентрации калия в исследуемых типах вина, мг/дм³, P = 0,95

Наименование	Среднее арифметическое	Максимальное значение	Минимальное значение
Натуральные белые сухие	517,4	900	408
Натуральные красные сухие	960,8	1100	682
Натуральные розовые сухие	890,5	954	536
Фальсифицированные красные сухие	59,4	306	0,5
Фальсифицированные белые и розовые сухие	35,2	188	2,2
Фальсифицированные вина типа портвейн	89,7	352	1,4
Натуральные некачественные белые и красные сухие вина	1284	2128	1150
Натуральные некачественные вина типа портвейн	1266	1590	1226

Затем по ГОСТ Р 51432-99 [309] определяли зольность вина, выполняли расчет соотношения зольность/калий и проводили определение характерного

профиля фенольных веществ анализируемых виноградных вин методом КЭ, таблица 48.

Таблица 48 – Сравнительный анализ качества вина разными методами, данные 2005 г., $P = 0,95$

Наименование образца	Содержание катионов калия, мг/дм ³	Зольность, мг/дм ³	Соотношение зольность/калий	Характеристика качества	КЭ профиль фенольных веществ
Белое натуральное вино «Шардоне»	890	1584	1,8:1	Хорошее	Типичный
Белое натуральное вино «Рислинг»	900	1687	1,9:1	Хорошее	Типичный
Красное натуральное вино «Мерло»	1025	2084	2:1	Хорошее	Типичный
Виноградное вино «Кагор-32»	1010	2260	2,2:1	Хорошее	Типичный
Виноградное вино «Красная гроздь»	720	1328	1,8:1	Хорошее	Типичный
Фальсифицированное вино «Кагор»	12	368	31:1	Низкое	Типичный
Фальсифицированное специальное вино «Улыбка»	8	246	31:1	Низкое	Не типичный
Фальсифицированное вино «Портвейн Анапа»	23	230	10:1	Низкое	Не типичный
Фальсифицированное вино «Изабелла. Красное полусухое»	9	470	52:1	Низкое	Типичный
Натуральное вино «Изабелла. Красное полусухое»	490	994	2,03:1	Хорошее	Типичный
Фальсифицированное вино «Шардоне. Белое сухое»	32	400	12,5:1	Низкое	Типичный
Натуральное вино «Мерло. Красное сухое»	1355	1594	1,17:1	Низкое, повышенный калий	Типичный
Натуральное вино «Изабелла. Красное полусладкое»	1690	4235	2,5:1	Низкое	Типичный
Натуральное виноградное вино «Улыбка»	1880	4970	2,64:1	Низкое	Типичный

Только для двух образцов обнаружено несоответствие профиля фенольных веществ типичному, для остальных образцов, несмотря на их спорное качество, более объективный результат дает комбинированный разработанный критерий качества: содержание катионов калия в пределах $400\text{--}1100\text{ мг/дм}^3$ и соотношение зольность к массовой концентрации калия $1,8:1\text{--}2,2:1$ в сравниваемых пробах. Предлагаемый подход позволяет систематизировать группы виноградного вина.

2.5.2 Установление качества виноградного вина

по содержанию в нем многоатомных спиртов

Виноградные вина содержат целый ряд многоатомных спиртов, а уксусный альдегид, диацетил, ацетонин, 2,3-бутиленгликоль являются прямыми или косвенными продуктами окисления этанола [11, 310]. В результате обратимой реакции конденсации двух молекул спирта образуется ацетонин, при восстановлении которого получается 2,3-бутиленгликоль [310].

Содержание глицерина в виноградных винах достигает значительных концентраций, оказывает непосредственное влияние на вкус и одновременно косвенно свидетельствует об их натуральном происхождении: в белых сухих винах от 4 до 8 г/дм³ (типа портвейн – от 2 г/дм³); в красных винах – до 12-14 г/дм³. Искусственная добавка глицерина в вино ухудшает вкусовые параметры, придавая ему синтетические оттенки.

Содержание глицерина и остальных продуктов спиртового брожения находится в балансе, согласно которому в единице объема бродящей среды количество молей глицерина равно или превышает сумму удвоенного количества молей уксусной кислоты, пятикратного количества молей янтарной кислоты, удвоенного количества молей ацетонина, 2,3-бутиленгликоля и ацетальдегида [33]. В пересчете с молярных концентраций на массовые авторами [33] были получены эталонные данные по выходу вторичных продуктов при нормальном

прохождении спиртового брожения, г/дм³: глицерин – 5,9; уксусная кислота – 0,5; янтарная кислота – 0,8; ацетонин – 0,1; бутандиол – 0,4; ацетальдегид – 0,1. Поскольку процесс образования вторичных продуктов брожения тесно связан с размножением дрожжевых клеток, доля глицерина в общем выходе вторичных продуктов составит 0,76; уксусной кислоты – 0,06; янтарной кислоты – 0,11; ацетонина и ацетальдегида – по 0,01; бутандиола – 0,05.

Метод капиллярной и обычной ГХ позволяет выполнить определение массовой концентрации не только глицерина, но и других гликолей. Применение прямого дозирования пробы в натуральных, ликерных винах может быть проведено как на насадочных колонках, так и методом капиллярной ГХ с использованием ДИП.

С учетом имеющихся экспериментальных данных для реализации данного вида анализа апробированы полимерные сорбенты фракции 0,25–0,30 мм (таблица 49).

Таблица 49 – Характеристика колонок, содержащих полимерные сорбенты для ГХ-определения глицерина

Вариант режима анализа	Сорбент		
	Полисорб	Сепарон BD	Сепарон BS
Время выхода глицерина, мин	5,5	6	6
Число теоретических тарелок	980	1120	1170
Асимметрия пика	0,74	0,82	0,76
Коэффициент корреляции	0,9856	0,9454	0,9565
Погрешность определения калибровочной концентрации глицерина после 30 вводов пробы вина, %	25	20	20

Условия ГХ анализа были выбраны следующие: стальная колонка длиной 0,5 м, внутренним диаметром 3 мм; заполненную колонку кондиционируют 8 час при температуре 180°C. Используют следующий режим анализа: температура термостата колонок – 180°C; температура подогрева детектора – 200°C; температура инжектора – 200°C; расход газа носителя (азота) – 30 см³/мин;

расход водорода – 30 см³/мин; расход воздуха – 500 см³/мин; объем пробы – 2 мм³; время анализа – 10 мин. Результаты исследования 3-х видов сорбентов показали их применимость для данного вида анализа, ограничением во всех случаях является допустимое число дозирования пробы вина, содержащего углеводы.

Учитывая специфику анализа, низкую летучесть и высокую полярность глицерина, предварительно следует сделать 3–5 дозирования стандартного раствора глицерина концентрацией 50 г/дм³ для насыщения колонки. Затем, используя программное обеспечение, получали градуировочную зависимость, по водным растворам глицерина концентрацией 5, 10 и 20 г/дм³, убеждались в линейности работы детектора и проводили измерения в исследуемых образцах. Расчет массовой концентрации глицерина выполняли методом градуировки. Продукты разложения пробы вина в дозаторе достаточно быстро загрязняют сорбент: экспериментальное наблюдение показало, что сорбент полностью теряет разделяющую способность после 50–80 дозирования. Применение насадочных колонок не позволило проводить корректный анализ для вин, содержащих значительные количества углеводов (более 70 г/дм³), так как определение глицерина становится невозможным ввиду увеличения шумов, вызванных разложением углеводов в комплексе с аминокислотами, фенольными и дубильными веществами вина.

Далее разработан вариант капиллярной ГХ, позволяющей регистрировать глицерин в различных типах вина, так как количество неподвижной фазы в колонке минимально, а продукты разложения нелетучих компонентов вина остаются на стенках инжектора, не попадая в саму колонку (рисунок 45). Тем не менее, число прямых дозирования ввиду загрязнения системы хроматографа существенно ограничено, а это требует периодического перезаполнения колонки.

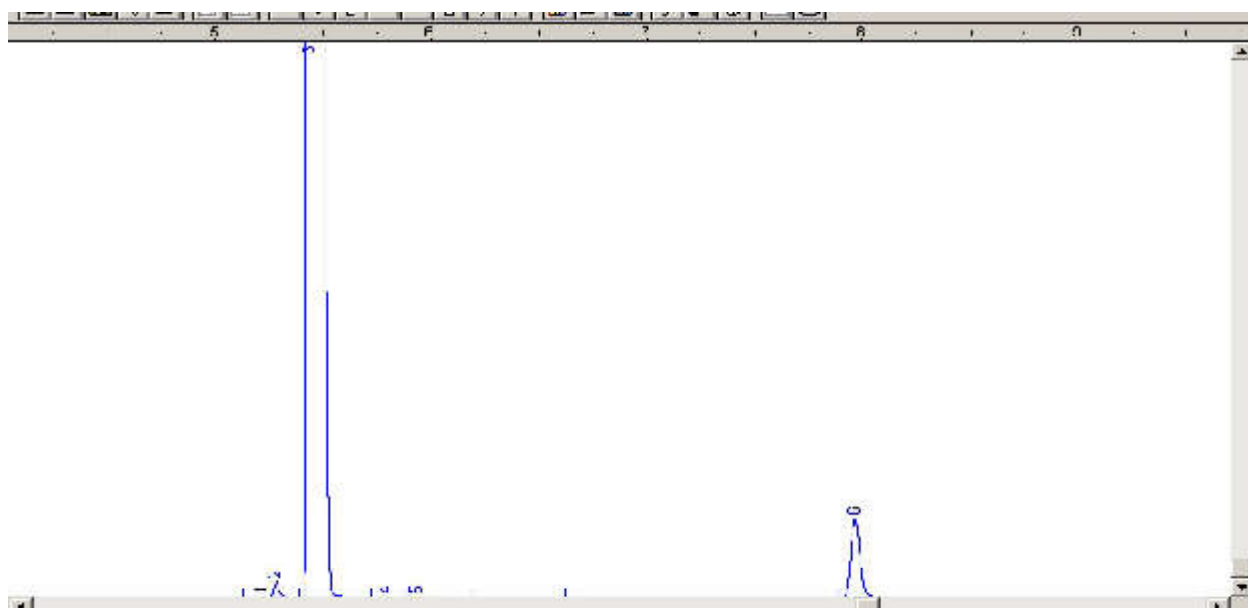


Рисунок 45 – ГХ-определение глицерина на капиллярной колонке,
пик № 6 – глицерин

В результате проведенных экспериментов были выбраны следующие условия ГХ анализа: стальная (кварцевая) капиллярная колонка длиной 12 м, внутренний диаметр 0,32 мм, НЖФ – полиэтиленгликоль 20000 (карбовакс 20М) и малеиновая кислота, соотношение 1:0,1; температура инжектора хроматографа – 180°C; температура подогрева детектора ДИП – 180°C; входное давление на колонке – 40 кПа; температура термостата колонок – 150°C; испаритель с делением потока, коэффициент деления потока – 1:10; поток газа-носителя через колонку – 2,50 см³/мин; объем пробы – 1 мм³; газ-носитель – азот; расход водорода – 25 см³/минуту; расход воздуха – 250 см³/мин; время анализа – 8 мин.

Были проведены следующие эксперименты по оптимизации условий заполнения капиллярной колонки НЖФ:

1. НЖФ – полиэтиленгликоль 20000.
2. НЖФ – полиэтиленгликоль 600 +малеиновая кислота, соотношение 1:0,1.
3. НЖФ – полиэтиленгликоль 20000 (карбовакс 20М)+малеиновая кислота, соотношение 1:0,2.

4. НЖФ – полиэтиленгликоль 20000 (карбовакс 20М)+малеиновая кислота, соотношение 1:0,1.

Аналитическая характеристика подобранных НЖФ приведена в таблице 50.

Таблица 50 – Аналитическая характеристика НЖФ для определения глицерина

Вариант НЖФ для заполнения колонки	1	2	3	4
Время выхода глицерина, мин	4,50	5,0	7,2	6,3
Количество дозирования пробы, позволяющих выполнить корректное определение	10–12	15–20	50–80	50–80
Коэффициент корреляции калибровки	0,988	0,984	0,974	0,971
% поглощения глицерина НЖФ в ходе анализа	0	0	5	0

Анализ полученных результатов показал, что избыточное внесение малеиновой кислоты приводило к искажению количественных результатов. Глицерин выходит на 8 минуте, вещества с меньшими температурами кипения мигрируют на 3–5 минуте. В случае повышения температуры инжектора до 230°C, а термостата колонок до 140°C, значительно увеличиваются флуктуационные шумы, вызванные разложением углеводов, фенольных и дубильных веществ вина: измерение глицерина становится невозможным. Для количественных расчетов получали градуировочную зависимость по водным растворам глицерина концентрацией 5, 10 и 20 г/дм³, убеждались в линейности работы детектора и проводили измерения в исследуемых образцах методом градуировки. Корреляция градуировочного графика глицерина составила 0,9988 для варианта 4, асимметрия пика – 0,78, предел обнаружения – 0,1 г/дм³. В случае потери разделяющей способности колонки ее перезаполняют следующим образом: в стеклянную микропробирку вносят 42 мг полиэтиленгликоля 20М, 4,2 мг малеиновой кислоты и добавляют 420 мг (0,6 см³) этилацетата и заполняют методом пробки под давлением 20 кПа. Колонку кондиционируют при 140°C в течение 10 час.

Следует отметить, что глицерин, как отдельно взятый параметр не может служить критерием натуральности, но ввиду его очевидной взаимосвязи с основными и вторичными продуктами брожения оказывает значительное влияние на вкусовое восприятие вина и косвенно на аромат.

2.5.2 Идентификация виноградного вина по интегральному профилю содержания в нем фенольных веществ

Получение характеристического профиля выбранных компонентов виноградного вина, например, фенольных веществ, может позволить улучшить идентификацию вина и выделить фальсификаты, что обусловило использование системы капиллярного электрофореза серии Капель [311]. Учитывая особенности технологии вина, были выбраны для основных типов вина электролиты и условия анализа.

Приготовление электролита для анализа красных и белых вин типа портвейна:

Раствор борной кислоты концентрацией 0,3%: 75 мг борной кислоты вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, далее растворяли при перемешивании, вносили 0,3 см³ 1Н гидроокиси натрия, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Раствор дигидрофосфата калия концентрацией 0,275%: 68 мг дигидрофосфата калия вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Рабочий электролит получали смешиванием раствора борной кислоты и дигидрофосфата калия в соотношении 1:1 в объеме, достаточном для проведения измерений в течение одного рабочего дня.

Устанавливали следующий режим анализа на приборе: положительное напряжение 16 кВ, время анализа 20 мин. Одну порцию электролита применяли для выполнения 5 анализов, затем ввиду истощения заменяли новой порцией.

Приготовление электролита для анализа сухих красных и белых виноградных вин:

Раствор борной кислоты концентрацией 0,3%: 75 мг борной кислоты вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, далее растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Раствор тетрабората натрия десятиводного концентрацией 0,8%: 200 мг тетрабората натрия десятиводного вносили в мерную колбу объемом 25 см³, добавляли 20 см³ дистиллированной воды, растворяли при перемешивании, доводили дистиллированной водой до метки 25 см³.

Рабочий электролит получали смешиванием раствора борной кислоты и тетрабората натрия десятиводного в соотношении 10:1 в объеме, достаточном для проведения измерений в течение одного рабочего дня.

Использовали следующий режим анализа на приборе: положительное напряжение 12 кВ, время анализа 15 мин. Одну порцию электролита применяли для выполнения 5 анализов, затем ввиду истощения заменяли новой порцией.

Перед измерением образцов вина модифицировали капилляр, промывая его 1Н соляной кислотой в течение 3 минут, затем дистиллированной водой – 3 минуты, затем 1Н гидроокисью натрия – в течение 3 минут, дистиллированной водой – в течение 3 минут. Модифицирование выполняли 1 раз в начале рабочего дня перед началом выполнения измерений. Для проведения анализа в капилляр подавали рабочий электролит в течение 3 минут и регистрировали не менее 2 образцов для достижения стабильности работы капилляра. При переходе на новую порцию электролита результат первого анализа не учитывали. По окончании работ промывали капилляр согласно инструкции на прибор.

Ход определения: образец вина отбирали мерной пипеткой в количестве $0,4 \text{ см}^3$ в пробирку Эппендорфа, добавляли $0,4 \text{ см}^3$ разбавленного в 10 раз дистиллированной водой рабочего электролита, перемешивали и центрифугировали 4 минуты при 6000 об^{-1} , помещали пробирку в прибор. Пневматическим методом под давлением 30 мБар в течение 15 секунд дозировали пробу в капилляр. Вещества, содержащие неперелетные связи и обладающие электропроводимостью, регистрировали в виде характерного для данного режима анализа вина набором пиков различной интенсивности.

В результате анализа полученных электрофореграмм, вина типа портвейн были разделены на две группы: красные и белые, обе группы охарактеризованы одним и тем же набором пиков, которые в случае красных вин имеют гораздо большую интенсивность пиков, чем в случае белых вин. Электрофореграммы сухих красных и белых вин составили отдельные группы.

Белые вина (натуральные полусладкие и ликерные – портвейны, мадера, херес и им аналогичные) имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пик меланоидинов со средним временем выхода 3,59 мин (относительное время выхода 1,00); высота – 1,0–10,0 мВ, ширина – 0,20–0,40 минуты, площадь изменяется в пределах 10,0–150,0 мВсек. Пики средней группы имеют среднее время выхода от 5,25 до 10,17 мин (относительное время от 1,46 до 2,83). Пики этой группы имеют высоту 0,5–3,0 мВ, ширину – 0,05–0,6 мин; площадь изменяется в пределах 2,0–40,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 12,32–16,90 мин (относительное время 3,43–4,70). Пики этой группы имеют высоту 1,0–5,0 мВ, ширину – 0,05–0,6 мин; площадь изменяется в пределах 5,0–50,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$.

Красные вина (натуральные полусладкие и ликерные – кагор, портвейны и им аналогичные) имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пик меланоидинов со средним временем выхода 3,18 мин (относительное время выхода 1,00), его высота составляет 0,5–5,0 мВ, ширина – 0,2–0,4 мин; площадь изменяется в пределах 10,0–100,0 мВсек. Пики средней группы являются

основными на электрофореграмме и имеют среднее время выхода от 4,46 до 7,70 мин (относительное время от 1,40 до 2,42). Пики этой группы имеют высоту 2,0–10,0 мВ, ширину – 0,2–0,8 минуты, площадь изменяется в пределах 30,0–250,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 9,76–12,30 мин (относительное время 3,06–3,86). Пики этой группы имеют высоту 1,0–5,0 мВ, ширину – 0,2–0,5 мин; площадь изменяется в пределах 10,0–60,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. В качестве примера параметры пиков для белых и красных вин типа портвейна приведены в таблице 51.

Таблица 51 – Параметры пиков для белых и красных вин типа портвейна

Контролируемая характеристика (наименование пика)	Время выхода пика, мин	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, мин.	Площадь пика, мВ·сек
Параметры пиков для белых вин (натуральных полусладких и типа портвейна, мадера, херес и другие)					
Пик меланоидинов	3,59	1,00	1,0–10,0	0,2–0,4	10,0–150,0
Пики средней группы	5,25–10,17	1,46–2,83	0,5–3,0	0,05–0,6	2,0–40,0
Пики заключительной группы	12,32–16,9	3,43–4,70	1,0–5,0	0,05–0,6	5,0–50,0
Параметры пиков для красных вин (натуральных полусладких и типа портвейна, кагор и другие)					
Пик меланоидинов	3,18	1,00	0,5–5,0	0,2–0,4	10,0–100,0
Пики средней группы	4,46–7,70	1,40–2,42	2,0–10,0	0,2–0,8	30,0–250,0
Пики заключительной группы	9,76–12,30	3,06–3,86	1,0–5,0	0,2–0,5	10,0–60,0

При отсутствии всех пиков или одной из групп пиков виноматериал или вино следует признать фальсифицированными. При наличии всех групп пиков, но при площадях меньше минимально указанных в таблице данных по обработке параметров пиков, – виноматериал или вино признают имеющим натуральную основу, но разбавленным водно-спиртовой смесью. При наличии всех групп пиков при значениях площадей в пределах, указанных в таблице данных по обработке параметров пиков, – виноматериал или вино признают натуральным, имеющим виноградное происхождение (при условии соответствия требованиям

действующих ГОСТ). Примеры электрофореграмм определения интегрального профиля фенольных веществ виноградного вина типа портвейна показаны на рисунках 46, 47.

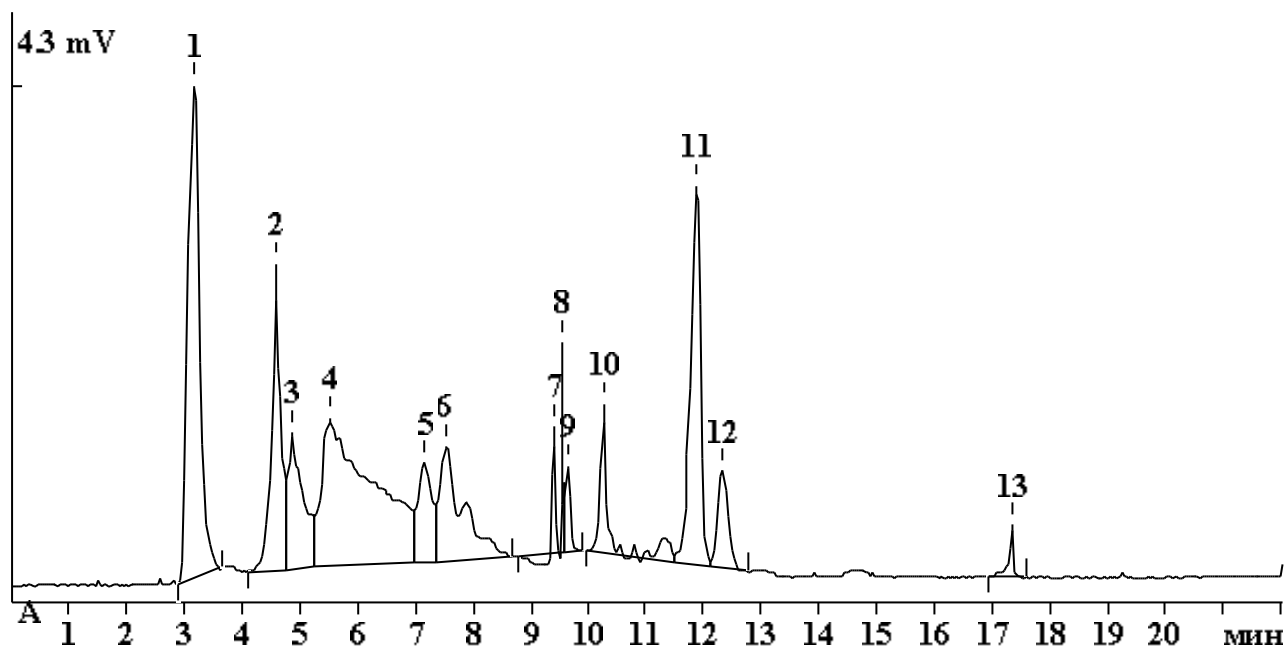


Рисунок 46 – Типовая электрофореграмма портвейна Анапа

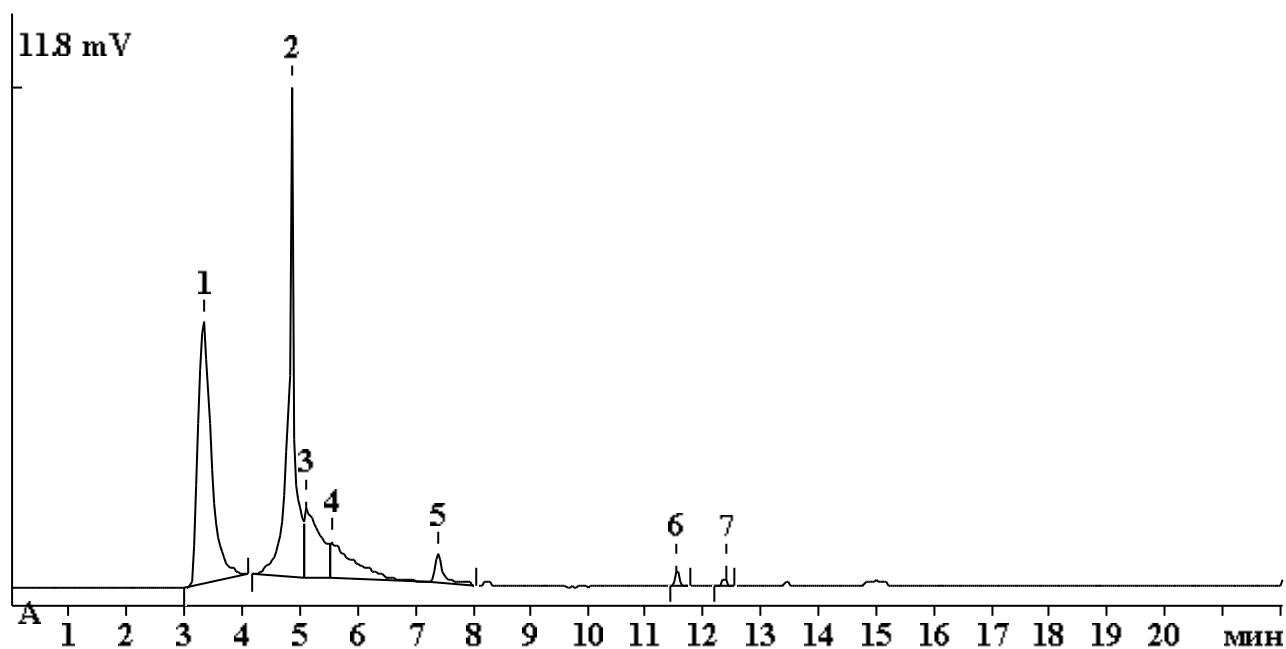


Рисунок 47 – Типовая электрофореграмма фальсифицированного портвейна «Анапа»

Сравнение электрофореграмм (рисунки 46, 47) наглядно показывает разницу в количестве пиков между натуральным и фальсифицированным вином. Проверку правильности определения проводят согласно инструкции прибора или с применением маркеров – миндальной, сиреневой, галловой кислот. В случае определения подлинности натуральных виноградных вин и получения в данном режиме анализа площадей пиков по всем группам, отличающихся в 2 и более раз от приведенных в таблице свидетельства аттестации, следует установить интервалы изменения площадей пиков для данного прибора. Интервалы устанавливаются путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза. Интервал площадей пиков средней группы – по сиреневой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (таблица 52). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном водно-спиртовом растворе.

Таблица 52 – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь № 1) и максимального (смесь № 2) значения интервала изменения площадей пиков в группе на примере виноградного вина типа портвейна

Наименование пика	Наименование вещества контрольной смеси	Смесь № 1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь № 2, для максимального значения, мг/дм ³
Для белых вин (натуральных полусладких, типа портвейн, мадера, херес и другие)			
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	4	40
	Сиреневая кислота	4	40
Пики заключительной группы	Галловая кислота	5	50
Для красных вин (натуральных полусладких, типа портвейн и другие)			
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	30	250
	Сиреневая кислота	30	250
Пики заключительной группы	Галловая кислота	10	60

Красные сухие вина имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пики стартовой группы со средним временем выхода 4,90 мин (относительное время выхода 1,00); 6,24–6,81 мин (относительное время выхода от 1,26 до 1,40). Пики этой группы имеют высоту 0,5–2,0 мВ, ширину 0,2–0,4 минуты; площадь изменяется в пределах 10,0–40,0 мВ·сек. Основные пики средней группы имеют среднее время выхода 8,00–9,00 (относительное время 1,63–1,83); высоту 2,0–5,0 мВ, ширину 0,2–0,4 мин; площадь изменяется в пределах 20,0–90,0 мВ·сек. Основные пики средней группы имеют среднее время выхода 9,10–10,0 (относительное время 1,85–2,04); высоту 6,0–20,0 мВ, ширину 0,1–0,4 мин; площадь изменяется в пределах 50,0–200,0 мВ·сек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 10,02–18,0 мин (относительное время 2,04–3,67). Пики этой группы имеют высоту 1,0–5,0 мВ, ширину 0,2–0,6 мин; площадь изменяется в пределах 5,0–50,0 мВ·сек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$.

Белые сухие вина имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пики стартовой группы имеют среднее время выхода от 3,00 до 4,50 мин (относительное время выхода 0,53–0,80). Пики этой группы имеют высоту 0,2–3,0 мВ, ширину 0,05–0,3 мин; площадь изменяется в пределах 5,0–20,0 мВ·сек. Основной пик средней группы принят за характеристический, имеет среднее время выхода 5,58 (относительное время 1,00). Его высота составляет 3,0–10,0 мВ, ширина 0,02–0,05 мин; площадь изменяется в пределах 5,0–30,0 мВ·сек. Остальные пики средней группы имеют среднее время выхода от 5,00 до 5,30 мин (относительное время 0,89–0,95); высота составляет 0,5–3,0 мВ, ширина 0,02–0,05 мин; площадь изменяется в пределах 5,0–10,0 мВ·сек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода от 6,00 до 8,00 мин (относительное время 1,07–1,43). Пики этой группы имеют высоту 5,0–25,0 мВ, ширину 0,02–0,05 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0–40,0 мВ·сек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. Данные по обработке параметров пиков для красных и белых сухих вин приведены в таблице 53.

Таблица 53 – Параметры пиков для белых и красных сухих виноградных вин

Контролируемая характеристика (наименование пика)	Время выхода пика, мин	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, мин	Площадь пика, мВ·сек
для красных сухих вин					
Пики стартовой группы	4,90	1,00	0,5–1,0	0,2–0,4	10,0–30,0
	6,24–6,87	1,26–1,40	0,5–2,0	0,2–0,4	10,0–40,0
Основные пики средней группы	8,00–9,00	1,63–1,83	2,0–5,0	0,2–0,4	20,0–90,0
	9,10–10,00	1,85–2,04	6,0–20,0	0,1–0,4	50,0–200,0
Пики заключительной группы	10,02–18,00	2,04–3,67	1,0–5,0	0,2–0,6	5,0–50,0
для белых сухих вин					
Пики стартовой группы	3,00–4,50	0,53–0,80	0,2–3,0	0,05–0,30	5,0–20,0
Основные пики средней группы	5,00–5,30	0,89–0,97	0,5–3,0	0,02–0,05	5,0–10,0
	5,58	1,00	3,0–10,0	0,02–0,05	5,0–30,0
Пики заключительной группы	6,00–8,00	1,07–1,43	5,0–25,0	0,02–0,05	5,0–40,0

Интервалы для красных и белых сухих вин устанавливают путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза: площади пиков стартовой группы устанавливают по тирозину, пиков средней группы – по сиреновой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (таблица 54). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном водном этаноле. Срок хранения растворов в холодильнике (+4°C) не более 1 месяца.

Линейная зависимость фотометрического сигнала от концентрации кислот и тирозина, наблюдаемая в интервале концентраций 1–500 мг/дм³, была аппроксимирована линейным уравнением с помощью метода наименьших квадратов согласно программному обеспечению ПК. Полученное уравнение, например, для сиреновой кислоты имеет вид:

$$Y = 1,18892 X \quad (6)$$

где Y – отклик, X – концентрация сиреновой кислоты, мг/дм³.

Таблица 54 – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь № 1) и максимального (смесь № 2) значения интервала изменения площадей пиков сухих красных и белых виноградных вин

Наименование пика	Наименование вещества контрольной смеси	Смесь № 1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь № 2, для максимального значения, мг/дм ³
для красных сухих вин			
Пики стартовой группы	Тирозин	50	150
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	20	90
	Сиреновая кислота	50	200
Пики заключительной группы	Галловая кислота	10	50
для белых сухих вин			
Пики стартовой группы	Тирозин	25	100
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	5	10
	Сиреновая кислота	5	30
Пики заключительной группы	Галловая кислота	5	50

Критерием приемлимости является коэффициент корреляции, который для сиреновой кислоты составил 0,99996, что свидетельствует о возможности описания данных прямой. Установлено, что количественному определению не мешают аминокислоты, анионы, органические кислоты, глицерин и изомеры бутиленгликоля, летучие ароматические компоненты, а также искусственно внесенный антоциановый краситель – натуральный или синтетический. Результаты исследований оформлены в РД, приложение А-6.

2.6 Вкусовая оценка качества виноградных вин с использованием методов математической статистики

Органолептические свойства вин формируются как летучими, так и нелетучими компонентами, которые, взаимодействуя друг с другом, определяют их ароматические и вкусовые характеристики [304]. Летучие по большей части формируют ароматические свойства, нелетучие – вкусовые [301]. Следует отметить, что вкусовые характеристики вин определяются в большей степени содержанием титруемых кислот, свободных аминокислот, минеральной составляющей, фенольным комплексом [279, 312 – 314].

Минеральная составляющая виноградного вина формируется за счет содержания калия, натрия, магния, кальция, продуктов деструкции аминокислот [314]. Количество минеральной составляющей в вине регламентировано и выражается массой и щелочностью золы, а сам критерий рассматривается как интегральный показатель натуральности [102].

На содержание макрокатионов и их соотношения существенное влияние оказывают природно-климатические условия места произрастания винограда. Так, многолетние исследования показали, что в Краснодарском крае в соке ягод большинства технических сортов винограда массовая концентрация калия изменяется в пределах от 900 до 1600–2000 мг/дм³, а натрия от 130 до 300 мг/дм³. Регулирование содержаний основных элементов, ответственных за розливостойкость впоследствии получаемого вина, достигают в результате брожения виноградного сусла, когда в осадок вместе с дрожжами поступают соли винной кислоты за счет обработки холодом в естественных условиях или с помощью холодильных установок [292].

Аналитическая проверка содержаний компонентов вин включает методическую проверку и дегустационную оценку их качества. Низкокачественное вино или его фальсификацию при определенных условиях

можно определить инструментальным способом, но вместе с органолептической оценкой эти методы существенно дополняют друг друга. Контроль минеральных веществ позволяет установить факт разбавления вина водой, что проявляется в ухудшении вкуса, изменении баланса анионно-катионного состава. Предпринятые ранее попытки установления взаимосвязи между содержанием свободных аминокислот и подлинностью вин весьма противоречивы [40, 315].

Помимо аналитической проверки качества виноградного сухого вина была осуществлена дегустационная оценка по 100-балльной системе [316]. Для получения качественной оценки считали: если оценка менее 70 баллов, то вино низкого качества; если оценка от 70 до 80 – среднего качества; если оценка более 80 – высокого качества.

Анализируемые пробы вина были разделены на 3 равные группы. Группа 1 преимущественно состояла из вин высокого качества (36 проб высокого качества, 14 – среднего), группа 2 преимущественно состояла из вин среднего качества (44 пробы среднего качества, 6 проб – низкого), группа 3 преимущественно состояла из вин низкого качества (41 проба низкого качества, 9 проб – среднего). Принцип формирования групп был обусловлен необходимостью установления (статистического обнаружения) зависимостей дегустационной оценки вин от количественного содержания в них выбранных компонентов с учетом качества анализируемых образцов.

Для группы 1 были определены массовые концентрации катионов аммония (C_{Am}), калия (C_k), натрия (C_{Na}), магния (C_{Mg}), кальция (C_{Ca}), аминокислот – аргинина (C_{Arg}), пролина (C_{Pr}), треонина (C_{Tr}); для группы 2 – концентрации C_{Mg} , C_{Ca} , C_{Arg} , C_{Pr} , C_{Tr} , так как значения C_{Am} , C_k , C_{Na} были типичными для изучаемых натуральных вин; для группы 3 – концентрации C_{Arg} , C_{Pr} , C_{Tr} , так как значения C_{Na} , C_{Mg} , C_{Ca} , C_{Am} , C_k были также типичными для рассматриваемых вин.

Для определения содержания катионов и приоритетных свободных аминокислот в исследуемых группах вин были вычислены описательные статистики (таблицы 55–57). В терминологии пакета *STATISTICA* анализируемые объекты называются *Переменными*, N *набл* обозначает количество объектов

в выборке (группе), *Среднее* представляет собою среднее арифметическое значений концентрации веществ, *Минимум*, *Максимум* характеризуют диапазон изменения концентрации веществ в группах, *Ст. откл.* (стандартное или среднеквадратическое отклонение) характеризует степень изменчивости (разброса) содержания веществ относительно среднего значения. Как видно из таблиц 55–57, наибольшая концентрация во всех группах вин соответствует пролину, наименьшая — аргинину.

Таблица 55 – Описательные статистики для группы 1

Переменная	Описательные статистики				
	<i>N</i> набл.	Среднее	Минимум	Максимум	Ст.откл.
C_k	50	435,100	410,000	500,000	23,007
C_{Na}	50	29,280	21,000	53,000	6,606
C_{Mg}	50	52,320	24,000	62,000	8,443
C_{Ca}	50	61,120	51,000	68,000	4,706
C_{Arg}	50	25,460	21,000	31,000	2,314
C_{Pr}	50	685,440	600,000	788,000	50,969
C_{Tm}	50	49,980	40,000	58,000	5,309

Таблица 56 – Описательные статистики для группы 2

Переменная	Описательные статистики				
	<i>N</i> набл.	Среднее	Минимум	Максимум	Ст. откл.
C_{Mg}	50	97,760	86,000	120,000	6,883
C_{Ca}	50	124,140	110,000	150,000	9,823
C_{Arg}	50	4,320	1,000	8,000	1,766
C_{Pr}	50	213,220	168,000	255,000	16,319
C_{Tm}	50	5,840	1,000	34,000	4,683

Таблица 57 – Описательные статистики для группы 3

Переменная	Описательные статистики				
	<i>N</i> набл.	Среднее	Минимум	Максимум	Ст.откл.
C_{Arg}	50	5,660	1,000	9,000	2,335
C_{Pr}	50	48,780	35,000	59,000	6,541
C_{Tm}	50	14,280	10,000	25,000	3,704

Перспективность построения статистической модели взаимосвязи зависимой переменной от совокупности независимых переменных определяется силой корреляционных связей. В нашем случае зависимой переменной является дегустационная оценка, а независимыми – концентрации нелетучих веществ в вине.

В таблице 58 представлены значения коэффициентов корреляции r анализируемых веществ с дегустационной оценкой для вин соответственно групп 1, 2, 3: если $|r| \leq 0,250$, то корреляция слабая, если $0,250 < |r| \leq 0,750$ – корреляция умеренная, $|r| > 0,750$ – корреляция сильная.

Таблица 58 – Значения коэффициентов корреляции для изученных групп

Переменная	Корреляции. Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$, $N = 50$		
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
C_{Am}	-0,049		
C_k	0,435		
C_{Na}	-0,401		
C_{Me}	0,189	-0,126	
C_{Ca}	-0,538	0,246	
C_{Arg}	-0,231	-0,117	0,122
C_{Pr}	0,700	-0,143	0,411
C_{Irn}	-0,146	-0,141	-0,137

Положительная корреляция означает, что с увеличением концентрации данного вещества дегустационная оценка возрастает, отрицательная корреляция – наоборот, с увеличением концентрации данного вещества дегустационная оценка убывает.

Статистически значимые корреляции выделены жирным шрифтом. Из представленных таблиц следует, что для группы 2 построение регрессионной модели не является перспективным, так как корреляционные связи слабые и статистически незначимые. Для групп 1 и 3 построение регрессионных моделей является малоперспективным, так как корреляции либо слабые статистически незначимые, либо умеренные статистически значимые. С другой стороны, построение регрессионных моделей отдельно для вин высокого качества (группа

1), среднего качества (группа 2) и низкого качества (группа 3) не представляет практического интереса в силу специфичности моделей.

В таблице 59 отображены коэффициенты корреляции для вин высокого и среднего качества (объединенные группы 1 и 2) и вин качества широкого спектра (группы 1, 2, 3). Как видно из приведенных данных, все корреляции сильные, статистически значимые, при этом наибольшая стохастическая связь дегустационной оценки и C_{Pr} . Возможно, это связано с тем, что во всех трех группах C_{Pr} значительно преобладает над концентрациями остальных нелетучих веществ (таблицы 55–57).

Таблица 59 – Значения коэффициентов корреляции для объединенных групп

Переменная	Корреляции. Отмеченные корреляции значимы на уровне $\mu < 0,05$	
	Группа 1,2; $N=100$	Группа 1,2,3; $N=150$
C_{Ca}	-0,852	
C_{Mg}	-0,816	
C_{Arg}	0,838	0,814
C_{Pr}	0,899	0,899
C_{Irn}	0,835	0,763

По-видимому, существенный рост коэффициентов корреляции связан с увеличением изменчивости концентраций анализируемых веществ из-за объединения групп вин различного качества с дифференцированными дегустационными оценками.

Высокие корреляции нелетучих веществ с дегустационной оценкой делают возможным построение статистических моделей, описывающих характер их взаимосвязи. В таблице 60 представлены итоговые результаты построения множественной линейной регрессии посредством процедуры *пошаговая с включением* для объединенной группы 1 и 2 (100 проб вин).

Таблица 60 – Результаты регрессионного анализа для групп 1 и 2

N=100	Итоги регрессии для зависимой переменной: оценка $R = 0,910$; $R^2 = 0,828$; $F(3,96) = 153,77$, $p < 0,000$					
	<i>BETA</i>	Ст.Ош. <i>BETA</i>	<i>B</i>	Ст.Ош. <i>B</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
Св. член			65,806	0,745	88,287	0,000
C_{Pr}	1,513	0,192	0,035	0,004	7,883	0,000
C_{Trn}	-0,378	0,174	-0,092	0,042	-2,179	0,032
C_{Arg}	-0,258	0,171	-0,132	0,087	-1,513	0,134

По-видимому, существенный рост коэффициентов корреляции связан с увеличением изменчивости концентраций анализируемых веществ из-за объединения групп вин различного качества с дифференцированными дегустационными оценками.

Из информационной части таблицы 60 следует, что коэффициенты множественной корреляции $R = 0,91$ и детерминации $R^2 = 0,83$ имеют значения, близкие к 1. Это означает, что построено вполне адекватное уравнение регрессии, описывающее примерно 83% изменчивости отклика *Est* (уравнение считается адекватным, если описывает более 50% изменчивости отклика) относительно среднего значения. С учетом того, что уровень значимости критерия Фишера (*F*-критерий) $p < 0,05$, можно утверждать, что построено статистически значимое уравнение. В регрессионную модель не включены переменные C_{Ca} , C_{Mg} , так как их присутствие в модели не является определяющим.

Регрессионные коэффициенты *BETA* оцениваются по нормированным (стандартизованным) данным, имеющим выборочное среднее, равное 0 и стандартное отклонение, равное 1. Нормирование (стандартизация) переменной состоит в вычитании из ее значений среднего и делении на среднеквадратическое (стандартное) отклонение. По стандартизованным коэффициентам можно сравнить вклады каждого предиктора в предсказание отклика. Так, в отклик дегустационная оценка наибольший статистически значимый вклад вносит предиктор C_{Pr} ($BETA = 1,513$), а наименьший – C_{Arg} ($BETA = -0,258$). Причем вклад C_{Pr} в предсказание *Est* соответственно в 4 и 6 раз превосходит вклады C_{Trn} и C_{Arg} . Отрицательный знак коэффициентов означает, что с

увеличением значений соответствующих предикторов, диагностическая оценка уменьшается. Положительный знак наоборот – увеличение значений предикторов влечет возрастание оценки. Таким образом, чем выше C_{Pr} и ниже C_{Trn} и C_{Arg} , тем выше вкусовые качества вина и соответственно выше дегустационная оценка. Коэффициенты уравнения регрессии расположены в столбце *B* таблицы 60. Из последнего столбца таблицы 60 следует, что, в соответствии с критерием Стьюдента (*t*-критерий) параметры в модели за исключением коэффициента при предикторе C_{Arg} статистически значимы, так как соответствующий им уровень значимости $p < 0,05$ (отмечены полужирным шрифтом). В соответствии со значениями коэффициентов регрессии и ранее принятыми обозначениями переменных (предикторов), уравнение линейной множественной регрессии для групп 1 и 2 примет вид:

$$Est = 65,806 + 0,035C_{Pr} - 0,092C_{Trn} - 0,132C_{Arg}, \quad (7)$$

где *Est* – обозначение дегустационной оценки.

Дополнительным подтверждением адекватности построенной модели является сходство распределения остатков нормальному закону со средним значением, равным 0 (рисунок 48). Остатки представляют собою разность между эмпирическими (заданными) значениями дегустационной оценки и значениями, вычисленными по модели регрессии. Уровень значимости $p = 0,467$ критерия *Хи-квадрат* (Пирсона), приведенный в верхней информационной части графика, значительно превышающий 0,05, является статистическим обоснованием соответствия распределения остатков нормальному закону.

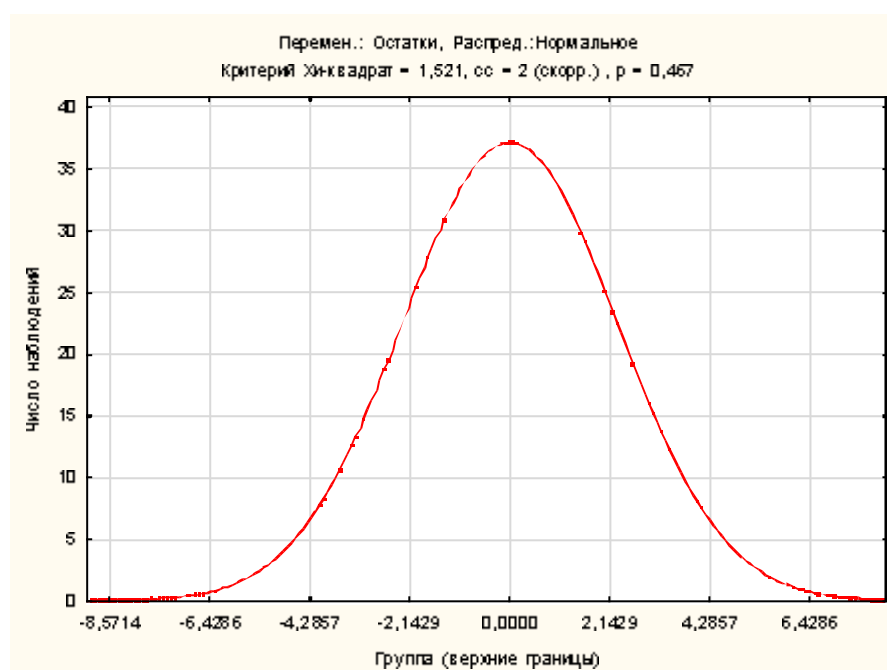


Рисунок 48 – Гистограмма распределения остатков для уравнения (7)

В таблице 61 отображены итоговые результаты построения множественной линейной регрессии посредством процедуры *пошаговая с включением* для объединенной группы 1, 2 и 3 (150 проб вин). Из информационной части таблицы следует, что также как и в первом случае, построено вполне адекватное статистически значимое уравнение регрессии, описывающее примерно 81% изменчивости отклика *Est*. В регрессионную модель также не включена переменная *аргинин*, так как ее присутствие в модели не является определяющим. Статистически значимыми параметрами в модели являются свободный член и коэффициент при предикторе C_{Pr} . Следует обратить внимание, что вклад C_{Pr} значительно (примерно в 10 раз) превышает вклад C_{Im} в предсказание дегустационной оценки.

Таблица 61 – Результаты регрессионного анализа для групп 1, 2 и 3

$N = 150$	Итоги регрессии для зависимой переменной: оценка $R = 0,900$; $R^2 = 0,811$; $F(2,147) = 315,19$; $p < 0,000$					
	<i>BETA</i>	Ст.Ош <i>BETA</i>	<i>B</i>	Ст.Ош <i>B</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
Свободный член уравнения			67,793	0,353	192,246	0,000
C_{Pr}	1,001	0,075	0,023	0,002	13,324	0,000
C_{Im}	-0,116	0,075	-0,037	0,024	-1,546	0,124

Из последнего столбца таблицы 61 следует, что в соответствии с критерием Стьюдента параметры модели – свободный член и коэффициент при предикторе C_{Pr} статистически значимы, так как соответствующий им уровень значимости $p < 0,05$. В соответствие со значениями коэффициентов регрессии и ранее принятыми обозначениями предикторов, уравнение линейной множественной регрессии для групп 1, 2 и 3 примет вид:

$$Est = 67,793 + 0,023C_{Pr} - 0,037C_{Trn} \quad (8)$$

Дополнительным подтверждением адекватности построенной модели является сходство распределения остатков нормальному закону со средним значением, равным 0 (рисунок 49). Уровень значимости $p = 0,949$ критерия *Хи-квадрат*, принимающий значение близкое к 1, является статистическим обоснованием соответствия распределения остатков нормальному закону.

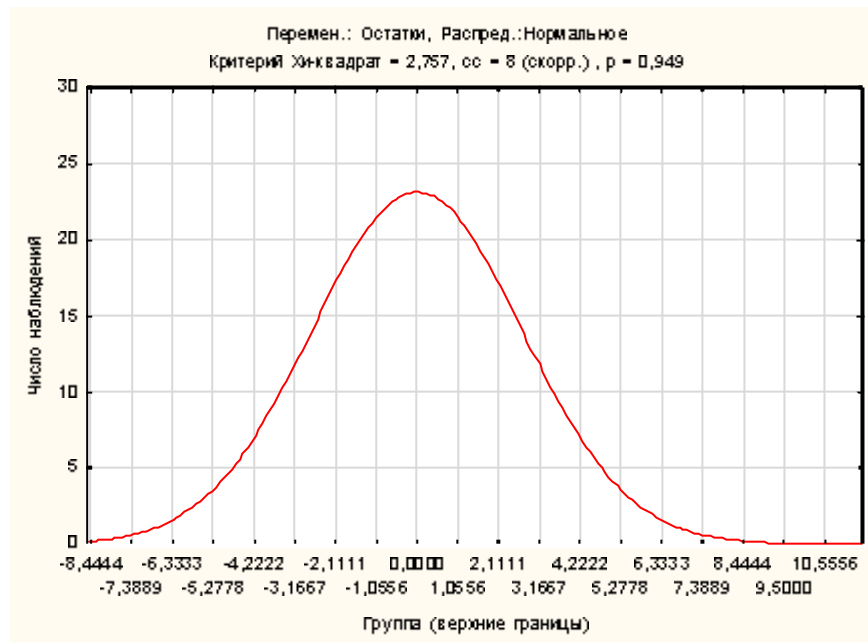


Рисунок 49 – Гистограмма распределения остатков для уравнения (8)

Посредством процедуры *пошаговая* с исключением для групп вин 1, 2 и 3 удалось построить альтернативную нелинейную множественную модель регрессии – квадратичное уравнение (таблица 62).

Таблица 62 – Результаты квадратичной регрессии для групп 1, 2 и 3

N= 150	Итоги регрессии для зависимой переменной: оценка $R = 0,903$; $R^2 = 0,816$; $F(2,147) = 326,33$; $p < 0,000$					
	BETA	Ст.Ош. BETA	B	Ст.Ош. B	t	P
Свободный член уравнения			70,85447	0,382	185,068	0,000
C_{Tm}	-0,401	0,092	-0,12738	0,029	-4,348	0,000
C_{Pr}	1,260	0,093	0,00004	0,000	13,668	0,000

Как видно из таблицы 62 и рисунка 50, степень адекватности модели сохранилась, как и в двух предыдущих случаях, в модель не включена переменная *аргинин*.

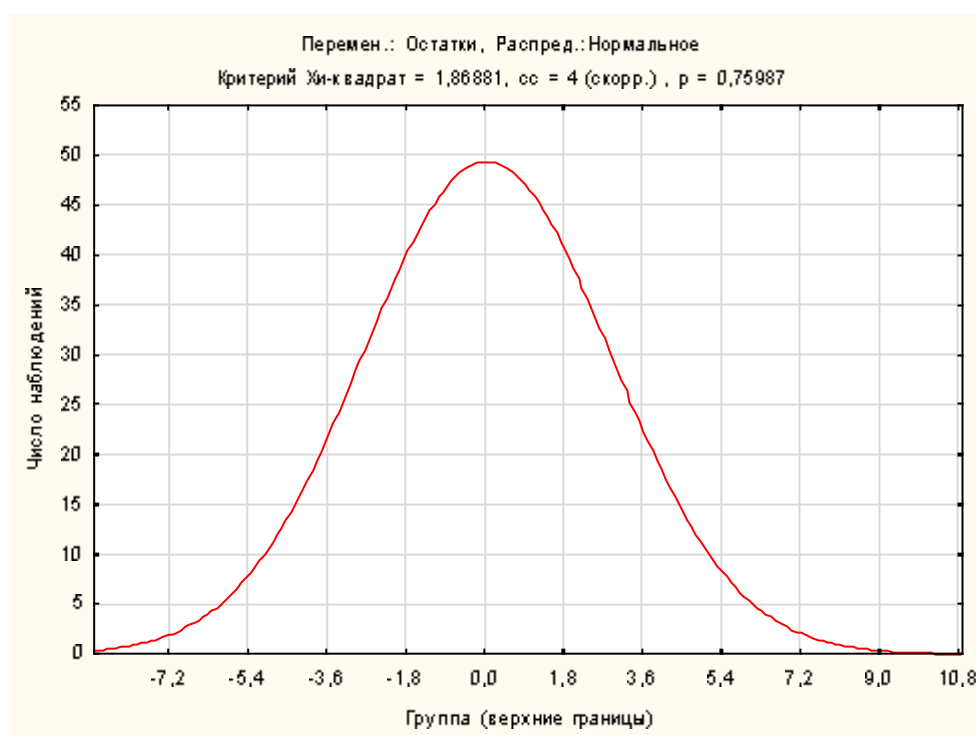


Рисунок 50 – Гистограмма распределения остатков для уравнения (9)

Уравнение квадратичной регрессии примет вид:

$$Est = 70,85447 - 0,12738C_{Tm} + 0,00004C_{Pr}^2 \quad (9)$$

Установлено, что уравнение (7) целесообразно использовать для прогноза дегустационной оценки вин преимущественно высокого и среднего качества,

так как они построены по этим группам. Уравнения (8), (9) являются более универсальными и могут быть использованы для предсказания дегустационной оценки вин произвольного качества. Уравнения получены при количестве проб вин, равном 150, из которых 36 – это пробы вин высокого качества, 75 – среднего качества, 39 – низкого, следовательно, наиболее точно будут вычислены прогнозные значения дегустационной оценки для вин среднего качества, менее точно – высокого и низкого качества.

Построенные статистические модели прогнозирования дегустационной оценки были апробированы посредством небольшого вычислительного эксперимента. По моделям (8) и (9) модулями *Множественная регрессия* и *Множественная нелинейная регрессия* программы *STATISTICA* были вычислены прогнозные значения дегустационной оценки для трех проб вин высокого, среднего и низкого качества (таблица 63).

Таблица 63 – Прогнозируемые значения дегустационной оценки

вина различного качества в зависимости от содержания аминокислот, мг/дм³

№ пробы	$C_{гр}$	$C_{им}$	Качество	Дегуст. оценка, балл	<i>Est</i> по модели (2)	Ошибка прогноза %	<i>Est</i> по модели (3)	Ошибка прогноза %
1	745	52	Высокое	86	83,036	3,4	84,477	1,7
2	651	56	Среднее	78	80,720	3,5	79,179	1,5
3	58	25	Низкое	65	68,207	4,9	67,790	4,3

Из таблицы 63 видно, что по всем трем пробам вин для квадратичной модели (уравнение 9) ошибка прогноза меньше, чем для линейной модели (уравнение 8). Средние ошибки прогноза по 3 пробам составили соответственно 3,9 и 2,5% для линейной и квадратичной модели. Таким образом, построены адекватные статистические модели, способные по содержанию в вине аминокислот прогнозировать дегустационную оценку натурального вина. Следует отметить, что выявлены основные факторы, влияющие на вкусовые качества вин а, следовательно, и на дегустационную оценку. Это – аминокислоты, перечисленные по степени убывания их влияния на вкусовые особенности вин:

пролин, треонин, аргинин. При этом, дегустационные оценки соответствуют концентрации приоритетных аминокислот в винах, т.е. эксперты в целом правильно фиксируют изменчивость концентрации аминокислот в винах при их дегустации. Содержание *аммония, калия, натрия, магния, кальция*, находящаяся в обозначенных диапазонах, по-видимому, не оказывает существенного воздействия на вкусовые свойства вин.

Таким образом, показано, что на вкусовые качества вина, наряду с ароматическими (летучими) веществами, также влияют нелетучие вещества: минеральные и органического происхождения – аминокислоты, непосредственно связанные с комплексом экстрактивных веществ вина. Естественно, нелетучие компоненты не так явно выделяются из общей гаммы, с ними сложнее работать, чем с ароматическими, но они должны быть неотъемлемой частью итоговой оценки, определяемой экспертами.

2.7 Вероятностно-статистическое моделирование органолептических качеств виноградных вин

2.7.1 Выбор предикторов для вероятностно-статистического моделирования

Обсуждаемые аналитические методы позволяют достоверно определить содержание приоритетных летучих компонентов, характеризующих натуральность виноградного вина, в частности, процесс алкогольного брожения исходного материала. Натуральные сухие виноградные вина отличаются низкой степенью окисленности компонентов, а для вин типа портвейнов и мадеры, технология которых предусматривает дозирование кислорода и тепловую обработку, напротив, характерно наличие продуктов окисления этилового спирта и их дальнейших превращений. В первую очередь, образуются уксусный альдегид, уксусная кислота, сложные эфиры и ацетали. Наибольшее значение

имеет уксусная кислота, на долю которой приходится до 90% суммарного содержания летучих кислот виноградных вин – формирует его аромат, вкус, активно участвует в различных химических реакциях. Однако избыточное количество уксусной кислоты отрицательно влияет на вкусовые характеристики вина, вызывает так называемый неприятный царапающий вкус, поэтому ее содержание ограничено НД на уровне не более 1,3 г/дм³.

Уксусная кислота активно участвует в реакциях этерификации, поэтому всегда обнаруживаются соответствующие ацетатные эфиры – в наибольших количествах этилацетат и метилацетат, эфиры остальных высших спиртов могут быть найдены в количествах на порядок меньших, чем этилацетат (60–80% суммарного содержания сложных эфиров). Массовая концентрация уксусного альдегида может служить критерием степени окисленности вина и позволяет с достаточным приближением определять соответствие его определенному типу [24]. Если для сухих качественных виноградных вин содержание ацетальдегида редко превышает 60–90 мг/дм³, то в винах типа портвейн (мадера) – десятки-сотни мг/дм³. Кроме уксусного альдегида в винах типа портвейн возможно появление альдегидов других высших спиртов, но в несколько раз меньших количествах. При нарушении технологии – использовании вторичного сырья, или подвергнутого порче, может быть обнаружен в количестве 5–30 мг/дм³ каприновый альдегид. Непосредственно участвуя в формировании букета вина, уксусный альдегид (выраженный аромат каленых орешков) взаимодействует в первую очередь с этиловым спиртом, имеющим максимальную концентрацию в вине и винных дистиллятах, образуя ацеталь (возможно и полуацеталь), являющийся важным компонентом вина и дистиллятов, обладает ярким фруктовым тоном [317]. Содержание ацетала в винах типа портвейна, как правило, на порядок меньше содержания этилацетата, для сухих качественных вин данный компонент не характерен. Возможно образование в винах типа портвейн и ацеталей других высших спиртов, однако их содержание будет на порядок меньше, чем этилацетала. Продуктом реакции конденсации ацетальдегида является диацетил (класс кетонов, жидкость желтого цвета,

характеризует излишнюю окисленность вина, причина многих пороков, имеет пересыщенный и очень навязчивый аромат, напоминающий сливочное масло, но с синтетическим оттенком), продукты окисления и конденсации диацетила имеют еще более неприятный запах, в конечном итоге из него образуется уксусная кислота. Ацетонин – твердое вещество белого цвета, с запахом, напоминающим сливочное масло, избыточные количества обнаруживают в окисленных сухих винах: постепенно деградирует с образованием продуктов, оказывающих негативное влияние на дегустационную оценку вина. Аналогичное относится к 2,3-пентадиону.

Фурфурол – в больших концентрациях придает неприятный аромат перегретых отрубей, как правило, ухудшает качество вина, хотя и принимает непосредственное участие в сложении аромата, в том числе с многочисленными органическими производными. Метилфурфурол и оксиметилфурфурол обладают слабым запахом, скорее формируют вкус. Фурфурол и его производные, как легко окисляемые и склонные к полимеризации вещества, дают целый ряд соединений, обуславливающих типичную окраску вина типа портвейна, так называемые меланоидины, а для натурального вина с остаточным содержанием углеводов являются причиной пороков цвета и вкуса [318]. Из летучих кислот наиболее негативную оценку для вина имеет масляная – дает неприятный запах старого масла, а ее количества свыше 5 мг/дм^3 свидетельствуют о нарушениях технологии. Каприновая и каприловая кислоты обеспечивают ароматы подсолнечного масла. Высшие кислоты могут образовывать сложные эфиры со всеми спиртами, и в первую очередь с этиловым спиртом. Наибольшее значение для качества вина имеют этилбутират, этилвалериат, этилкапринат, этилкаприлат. Элементы аромата, присущие выдержке виноградного вина в бочковой таре, принято связывать с лактонами.

Наиболее известные многоатомные спирты, неразрывно связанные с процессом брожения – это изомеры 2,3-бутиленгликоля (бесцветная сладковатая жидкость, обеспечивает полноту вкуса вместе с глицерином), глицерин, изомеры пропиленгликоля (бесцветные вязкие жидкости сладковатого вкуса). Этиловые

эфирные нелетучие органические кислоты (винной, яблочной, янтарной, молочной и т.д.) обладают относительно нейтральным ароматом [319].

Важным свидетельством натуральности вина является содержание высших спиртов в определенных соотношениях, в том числе изомеров изоамилового спирта: метил-3-бутанол-1 и метил-2-бутанол-1. Следует отметить обязательное наличие 2-фенилэтанола в количествах 15–100 мг/дм³ в сухих и крепких винах.

2.7.2 Вероятностно-статистическое моделирование органолептической характеристики

Органолептические свойства вин формируются за счет взаимодействия ароматических и вкусовых характеристик, причем ароматические создают по большей части летучие соединения, с другой стороны, вкусовые компоненты оказывают влияние на содержание летучих веществ в паровой фазе, их распределение и соотношение, что свидетельствует о неразрывности процесса дегустации [301]. Именно эти факторы обуславливают сложность при создании универсальных физико-химических приборов, способных установить интегральную характеристику вин, сравнимую с оценкой дегустатора. Для решения такого рода задач можно предположить, что более простые решения по определенным параметрам дегустации могут дать методы математического моделирования при условии предварительного установления и оптимизации состава показателей, формирующих качество вин. Такого типа действующая модель способна дать более реальную дегустационную оценку вин, позволит для решения оперативных задач существенно сократить продолжительность испытания по определению летучих компонентов, установить взаимосвязь между содержаниями летучих и нелетучих веществ.

В соответствии с накопленным нами экспериментальным материалом и анализом литературных данных в качестве веществ, формирующих

органолептические свойства, были выбраны следующие летучие компоненты и концентрации – ацетальдегид, этилацетат, метанол, суммарное содержание высших спиртов, уксусной кислоты, фурфурол [33, 320]. Методами математической статистики исследована взаимосвязь дегустационной оценки виноградных сухих вин с содержаниями основных летучих веществ, характеризующих основные потребительские качества. В среде пакета STATISTICA 10 построены регрессионные уравнения, позволяющие моделировать взаимосвязи компонент и дегустационной оценки, оценить степень влияния на аромат и аналитическую оценку тех или иных компонентов в заданных границах соответствия качества.

С учетом дегустационной оценки изученных вин из них были сформированы две группы (серии). Серия № 1 преимущественно состояла из натуральных виноградных вин высокого и хорошего качества – красные и белые вина «Мысхако», «Номерной резерв «Фанагория», «Шато Тамань», «Шато ля гранд Восток», а также вин из торговой сети с достаточно характерным содержанием летучих компонентов, из них: высокого качества – 36 шт.; среднего качества – 75 шт.; низкого качества – 39 шт. Серия № 2 преимущественно состояла из натуральных виноградных вин низкого качества, обусловленного разными причинами, в том числе нарушением условий хранения и проявившимися из-за них изменений количественного содержания в них летучих компонентов: среднего качества – 36 шт., низкого – 114 шт.

Принцип формирования вышеперечисленных групп был обусловлен необходимостью выявления (статистического обнаружения) зависимостей дегустационной оценки вин от содержания в них летучих компонентов с учетом качества анализируемых образцов.

На начальном этапе обработки эмпирических данных анализ качества вин проводили по числовым характеристикам исследуемых величин – описательным статистикам, которые дают наиболее общую оценку экспериментальных переменных данных, в качестве которых выступают концентрации ацетальдегида

(C_A), этилацетата (C_E), метанола (C_M), высших спиртов (C_{HA}), уксусной кислоты (C_{AA}) и фурфурола (C_F) (таблицы 64 и 65).

Таблица 64 – Описательные статистики по результатам газохроматографического анализа качества вин (серия № 1)

Переменная	Количество наблюдений	Среднее содержание, мг/дм ³	Медиана, мг/дм ³	Минимум, мг/дм ³	Максимум, мг/дм ³	Стандартное отклонение, мг/дм ³
C_A	150	79,5	45,0	21,0	230,0	65,4
C_E	150	57,3	56,0	44,0	77,0	6,2
C_M	150	71,8	58,0	40,0	165,0	29,2
C_{HA}	150	349,5	250,5	210,0	750,0	160,8
C_{AA}	150	438,2	363	240,0	850,0	143,3
C_F	150	15,6	6,0	2,0	66,0	15,9

Таблица 65 – Описательные статистики по результатам газохроматографического анализа качества вин (серия № 2)

Переменная	Количество наблюдений	Среднее содержание, мг/дм ³	Медиана, мг/дм ³	Минимум, мг/дм ³	Максимум, мг/дм ³	Стандартное отклонение, мг/дм ³
C_A	150	71,5	42,0	21,0	230,0	50,6
C_E	150	85,2	63,0	44,0	175,0	39,1
C_M	150	97,7	98,0	41,0	165,0	32,8
C_{HA}	150	287,2	288,0	200,0	370,0	49,6
C_{AA}	150	558,6	540,0	310,0	900,0	178,4
C_F	150	45,9	56,0	5,0	97,0	27,1

Как видно из таблицы 64, для дегустационной серии № 1 средняя концентрация уксусной кислоты (438,2 мг/дм³) значительно выше средних содержаний других летучих компонент, например, фурфурола (15,6 мг/дм³). Медиана является альтернативной оценкой среднего для непрерывных величин с асимметричным распределением. Наибольшее значение и в этом случае также соответствует уксусной кислоте (363 мг/дм³), а наименьшее – фурфуролу (6 мг/дм³). Наибольший разброс содержаний летучих компонентов в винах соответствует содержаниям высших спиртов (160,8 мг/дм³), наименьший – этилацетата (6,2 мг/дм³).

В серии № 2 среднее содержание уксусной кислоты также выше средних содержаний остальных компонентов, при этом оно возрастает по сравнению с серией № 1 и составляет 538,6 мг/дм³. Такая же тенденция наблюдается и с минимальными содержаниями компонента из этой серии – C_F , которая также возрастает и составляет 45,9 мг/дм³. Наибольшее значение медианы соответствует C_{AA} (540,0 мг/дм³), а наименьшее – C_A (42,0 мг/дм³). Наибольший разброс значений (178,5 мг/дм³) наблюдается при определении содержания уксусной кислоты, наименьший – C_F (27,1 мг/дм³).

Для выбора и построения уравнения регрессии исследовали наличие взаимосвязи между величиной дегустационной оценки и содержаниями летучих веществ. В таблице 66 отображены коэффициенты корреляции Пирсона, из которой следует, что коэффициенты корреляции переменных *Оценка* и C_A , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F статистически значимы. Как видно, взаимосвязи переменных *Оценка* с C_M , C_{HA} , C_F умеренные, близкие к сильной (коэффициенты корреляции близки к 0,75), а в случаях переменных *Оценка* с C_A , C_E , C_{AA} – слабые (коэффициенты корреляции меньше или близки к 0,25), причем коэффициент корреляции с переменной C_E статистически незначим. С увеличением содержания летучих веществ, за исключением этилацетата, дегустационная оценка уменьшается.

Таблица 66 – Коэффициенты корреляции между величиной дегустационной оценки и содержанием летучих веществ вина*

№	Наименование летучих веществ (независимая переменная)	Значение коэффициента корреляции (<i>Оценка</i>)	
		Серия № 1	Серия № 2
1	C_A	- 0,250	- 0,294
2	C_E	0,068	- 0,217
3	C_M	- 0,510	0,043
4	C_{HA}	- 0,620	- 0,173
5	C_{AA}	- 0,200	- 0,268
6	C_F	- 0,600	0,239

полужирным шрифтом выделены корреляции, значимые на уровне $p < 0,050$

Для серии № 2 коэффициенты корреляции переменных Est и C_A , C_E , C_{HA} , C_{AA} , C_F статистически значимы. Взаимосвязи переменной $Оценка$ с перечисленными переменными слабые (коэффициенты корреляции меньше или близки к 0,25), а с C_M – слабая и статистически незначимая (коэффициент корреляции близок к 0). С увеличением концентраций всех летучих компонентов, за исключением C_F и C_{Mn} , дегустационная оценка уменьшается.

Наличие корреляционных связей между Est и показателями концентрации летучих компонент обосновывает построение уравнения множественной линейной регрессии, описывающего линейный характер взаимосвязи:

$$Est = b_0 + b_1C_A + b_2C_E + b_3C_M + b_4C_{HA} + b_5C_{AA} + b_6C_F, \quad (10)$$

В таблице 67 отображены параметры построенного уравнения множественной линейной регрессии.

Таблица 67 – Результаты регрессионного анализа для серии вин № 1 и № 2

Параметр	BETA		B		t-критерий Стьюдента		P	
	Серия № 1	Серия № 2	Серия № 1	Серия № 2	Серия № 1	Серия № 2	Серия № 1	Серия № 2
Свободный член	–	–	95,631	66,076	31,229	14,567	0,000	0,000
C_A	-0,459	-0,516	-0,044	-0,033	-5,918	-2,529	0,000	0,013
C_E	0,025	0,099	0,025	0,008	0,583	0,419	0,560	0,676
C_M	-0,248	0,282	-0,053	0,028	-3,307	2,555	0,001	0,012
C_{HA}	-0,65	-0,021	-0,029	-0,001	-4,913	-0,140	0,000	0,889
C_{AA}	-0,277	0,048	-0,012	0,001	-3,537	0,219	0,001	0,827
C_F	0,028	0,045	0,011	0,005	0,183	0,216	0,850	0,829

Из таблицы видно, что в зависимую переменную Est наибольший статистически значимый вклад вносит предиктор C_{HA} (регрессионный коэффициент $BETA = -0,76$), а наименьший – C_M ($BETA = -0,25$). Отрицательный знак коэффициентов означает, что с увеличением значений соответствующих предикторов, диагностическая оценка уменьшается, а в случаях с положительным знаком и увеличением значений предикторов оценка возрастает. Значения коэффициентов множественной корреляции $R = 0,87$ и детерминации $R^2 = 0,76$, близкие к 1, позволяют заключить, что построено уравнение регрессии,

описывающее 76% изменчивости отклика относительно среднего значения. Статистики критерия Стьюдента для оценки статистической значимости коэффициентов уравнения для исследуемых компонентов (переменных) в модели, за исключением C_E , C_F статистически значимы, следовательно статистически значимы и сами коэффициенты. Уровень значимости $p = 0,318$ критерия Пирсона гипотезы о нормальном законе остатков значительно превышает 0,05, что является статистическим обоснованием соответствия распределения остатков нормальному закону. Из выше приведенных результатов следует, что для дегустационной серии № 1 построено адекватное, статистически значимое уравнение линейной множественной регрессии:

$$Est = 95,6 - 0,04C_A + 0,003C_E - 0,05C_M - 0,03C_{HA} - 0,01C_{AA} + 0,01C_F \quad (11)$$

Данное уравнение применимо для прогнозирования дегустационной оценки при условии, что известны содержания исследуемых летучих компонентов в вине (мг/дм³).

Аналогично вышеприведенным исследованиям строилась множественная линейная регрессия для дегустационной серии № 2. Значения предикторов множественной линейной регрессии для данной серии составили: $R = 0,38$, $R^2 = 0,14$, $F(6,143) = 4,018$, $p < 0,00095$. Так как величины коэффициентов множественной корреляции R (0,38) и детерминации R^2 (0,14) получили относительно низкие значения, можно заключить, что для данной дегустационной серии построено недостаточно адекватное уравнение регрессии.

Для унификации математической модели прогнозирования дегустационной оценки данные химического анализа серий вин № 1 и № 2 были объединены в общий массив и построено уравнение линейной множественной регрессии. Результаты регрессионного анализа представлены в таблице 68.

Таблица 68 – Значения предикторов множественной линейной регрессии по объединенным данным дегустационных серий вин

Параметр	БЕТА	Погрешность определения БЕТА	В	Погрешность определения В	T	P
Свободный член уравнения	–	–	92,84	1,03	90,15	0,000
C_A	-0,325	0,058	-0,033	0,006	-5,60	0,000
C_E	0,008	0,066	0,001	0,013	0,13	0,897
C_M	-0,117	0,050	-0,020	0,009	-2,32	0,021
C_{HA}	-0,343	0,040	-0,016	0,002	-8,49	0,000
C_{AA}	-0,432	0,072	-0,015	0,002	-5,99	0,000
C_F	-0,717	0,044	-0,160	0,010	-16,23	0,000

Значения статистик, определяющих качество построенной модели, для объединенной серии составили: $R = 0,822$, $R^2 = 0,676$, $F(6,29) = 101,880$, $p < 0,000$. Коэффициенты множественной корреляции R (0,822) и детерминации R^2 (0,676) свидетельствуют о том, что построено адекватное, статистически значимое уравнение регрессии, описывающее примерно 68% изменчивости отклика. В общей регрессионной модели все предикторы, за исключением C_E , статистически значимы, коэффициенты *БЕТА* имеют отрицательный знак, т.е., увеличение содержания летучих компонентов ведет к уменьшению дегустационной оценки.

Наибольший статистически значимый вклад в отклик *Est* вносит предиктор C_F , далее C_{AA} , C_{HA} , C_A , наименьший – C_M . Незначительный вклад C_M в регрессионную модель объясняется почти нейтральным ароматом метанола, который дегустаторы затрудняются выделить. Как видим, метанол, не относясь к главным характеристическим компонентам виноградного вина, представляет собой наиболее ядовитое и токсичное вещество для всех групп алкогольных напитков, но органолептическое определение его наличия в напитках практически не представляется возможным. Данный факт показывает избирательность и преимущество ГХ анализа, а также предложенной математической модели для

получения упрощенной интегральной характеристики качества вина. Уравнение линейной множественной регрессии по объединенным данным дегустационных серий вин имеет вид:

$$Est = 92,843 - 0,033C_A + 0,002C_E - 0,021C_M - 0,017C_{HA} - 0,015C_{AA} + 0,161C_F \quad (12)$$

Построенная математическая модель использована для прогнозирования дегустационной оценки вин, произведенных из европейской группы сортов винограда российского производства и закупленных из розничной сети (два образца вин были искусственно сфальсифицированы на основе красного не сортового виноматериала), качество которых параллельно определялось специалистами (таблица 69). По оценкам экспертов «Каберне», «Алиготе», «Рислинг» были идентифицированы как вина высокого качества, «Мерло» и два остальных сфальсифицированных продукта – как вина низкого качества.

Таблица 69 – Сравнительная дегустационная и статистическая оценки качества вин российского производства

Показатель мг/дм ³	Каберне	Алиготе	Рислинг	Мерло	Фальсифици- рованное вино № 1	Фальсифици- рованное вино № 2
C_A	2	18	52	20	5	12
C_E	39	145	63	35	22	14
C_M	156	31	40	246	4	3
C_{HA}	200	248	300	800	63	27
C_{AA}	72	416	180	280	20	100
C_F	3	2	3	8	0	1
Прогноз оценки, балл	84,6	81	82	68	91	90
Оценка экспертов, балл	86	81	83	66	низкая	низкая

В строке *прогноз Est* приведены диагностические оценки, вычисленные по уравнению (12). Как видно из таблицы 69, сухие вина «Каберне», «Алиготе», «Рислинг» следует отнести к винам высокого качества, т.к. расчетные оценки имеют значения более 80. Образец «Мерло» следует отнести к вину низкого

качества, так как вычисленная по уравнению (12) оценка имеет значение ниже 70. Предложенная классификация вин совпала с оценкой дегустаторов для первых четырех вин. Напротив, фальсифицированные вина 1 и 2 по предсказанным значениям оценки следует отнести к винам высокого качества.

Данное противоречие объясняется тем, что образцы фальсифицированных вин по своему химическому составу резко отличаются от использованных в выборке проб натуральных виноградных вин достаточно разного уровня качества, но являющихся натуральными. Соответственно уравнение регрессии построено в соответствии с установленной парадигмой – чем меньше содержание в вине летучих веществ, тем дегустационная оценка вина выше. У фальсифицированных вин, полученных с использованием ректифицированного спирта, как и следовало ожидать, найдено крайне низкое содержание высших спиртов и других летучих компонентов, что и обусловило результат, выходящий за рамки проведенного эксперимента.

Таким образом, установлена взаимосвязь дегустационной оценки вин с содержаниями в них основных летучих веществ разных классов (ацетальдегид, этилацетат, метанол, суммарное содержание высших спиртов, уксусная кислота, фурфурол), что позволило с определенной долей вероятности прогнозировать дегустационную оценку виноградных вин. Вероятностно-статистическая модель, описывающая взаимосвязь дегустационной оценки с содержанием в них летучих веществ, показала удовлетворительную сходимость с данными по дегустации экспертами вин высокого, среднего и низкого качества, которые преимущественно верно оцениваются в соответствии с органолептическими свойствами. Построенная математическая модель не предназначена для идентификации фальсифицированных вин с явными пороками, дефектами и нарушениями условий регламента производства.

2.7.3 Классификационный анализ для оценки качества виноградных вин в номинальной шкале

При помощи метода дискриминантного анализа, реализованного в пакете STATISTICA, установлено, что классификация вин с помощью экспертных (дегустационных) оценок уступает классификации вин с учетом содержаний компонентов по данным химического анализа.

В качестве испытуемых были взяты образцы натуральных виноградных вин высокого и среднего качества – красные и белые вина «Мысхако», «Номерной резерв», «Фанагория», «Шато Тамань», «Шато ля гранд Восток», а также ряд вин из торговой сети с достаточно характерным содержанием летучих компонентов. По результатам дегустационной оценки эти указанные образцы были распределены на группы высокого, среднего, низкого качества и фальсификаты (раздел 2.6) соответственно в количестве 36, 111, 159, 24.

В процессе анализа результатов испытаний натуральных вин за четырехлетний период нами были установлены пороговые значения концентраций некоторых летучих веществ, также позволяющие прогнозировать качество кубанских вин по указанным выше категориям. Предельными значениями содержаний компонентов в натуральных винах были установлены: фурфурол – 9, уксусная кислота – 430, метанол – 95, высшие спирты – 150 мг/дм³.

Соответственно принято:

- если содержание фурфурола в образце вина выше 9 мг/дм³, то вино низкого качества;
- если содержание фурфурола в образце вина не более 9 мг/дм³, уксусной кислоты и метанола более 430 и 95 мг/дм³ соответственно, то наиболее вероятно, что вино также низкого качества;
- если содержание фурфурола в образце вина не более 9 мг/дм³, уксусной кислоты более 430 мг/дм³, а концентрация метанола в образце вина не превышает 95 мг/дм³, то наиболее вероятно, что вино среднего качества;

– если содержание фурфурола и уксусной кислоты в образце вина не превышает 9 и 430 мг/дм³ соответственно, а высших спиртов более 150 мг/дм³, то наиболее вероятно, что вино высокого качества;

– если при выполнении условий предыдущего пункта содержание высших спиртов в образце вина не превышает 150 мг/дм³, то наиболее вероятно, что вино фальсифицировано.

С учетом данного эмпирического алгоритма испытуемые 330 образцов были разделены на группы высокого, среднего, низкого качества и фальсификаты по концентрациям летучих веществ в количестве 50, 50, 200, 30 шт. соответственно.

Гистограммы, иллюстрирующие распределение образцов вин по группам качества вышеперечисленными альтернативными способами, показаны на рисунке 51. Как видно из гистограмм, распределения образцов вин по классам при определении их качества существенно отличаются для этих способов. Так, при классификации вин по значениям их дегустационной оценки к винам высокого, среднего, низкого качества и фальсификатам отнесены 11, 34, 48 и 7% соответственно из анализируемой выборки образцов. При классификации образцов вин по содержаниям в них летучих веществ к этим же категориям отнесены соответственно 15, 15, 61, 9%.

Метод таблиц сопряженности использовали для более полного установления степени отличия двух групп классификации. Сопряжение (кросстабуляция) – процесс объединения двух, или нескольких таблиц частот так, что каждая ячейка в построенной таблице представляется единственной комбинацией значений или уровней табулированных переменных [320, 321]. Таким образом, кросстабуляция позволит совместить частоты появления наблюдений на разных уровнях рассматриваемых факторов.

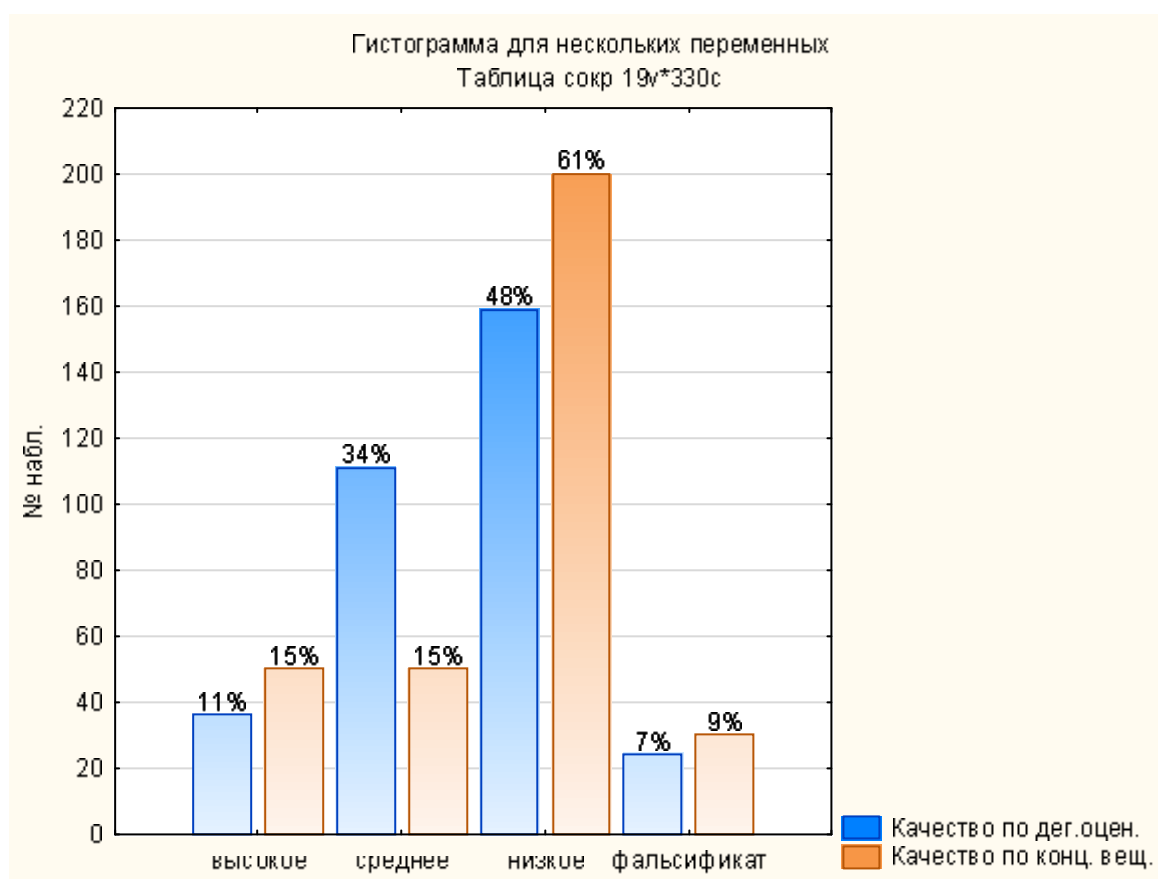


Рисунок 51 – Гистограмма частот распределения вин по классам

В таблице 70 отображены частоты и относительные частоты распределения образцов вин одновременно по двум факторам – критериям качества. Анализ таблиц сопряженности можно проводить по столбцам, по строкам или одновременно по строкам и столбцам. В таблице 70 приведены проценты по столбцам, что предполагает проведение анализа распределения частот по столбцам.

Таблица 70 – Двумерная таблица частот распределения образцов вин по критериям качества

Качество вин по результатам дегустационной оценки	Качество вин по содержаниям компонентов, двухходовая итоговая: наблюдаемые частоты Частоты выделенных ячеек > 10				
	высокое	среднее	низкое	фальсификат	Всего по строке
Высокое	36	0	0	0	36
столбц. %	72,00%	0,00%	0,00%	0,00%	
Среднее	14	44	53	0	111
столбц. %	28,00%	88,00%	26,50%	0,00%	
Низкое	0	6	147	6	159
столбц. %	0,00%	12,00%	73,50%	20,00%	
Фальсификат	0	0	0	24	10
столбц. %	0,00%	0,00%	0,00%	80,00%	
Всего	50	50	200	30	330

Из первого столбца таблицы 70 видно, что из 50 образцов вин, классифицированных по концентрациям веществ как вина высокого качества, только 36 (72%) отнесены к группе вин высокого качества по результатам их дегустационной оценки, а 14 (28%) – к винам среднего качества. Из данных второго столбца таблицы следует, что из 50 образцов вин, классифицированных по концентрациям веществ как вина среднего качества, 44 (88%) отнесены по результатам их дегустационной оценки к группе вин среднего качества, а 6 (12%) – к винам низкого качества. Из данных третьего столбца таблицы видно, что из 200 образцов вин, классифицированных по концентрациям веществ как вина низкого качества, 147 (73,5%) отнесены по результатам их дегустационной оценки к винам низкого качества, а 53 (26,5%) – к винам среднего качества. Последний столбец таблицы свидетельствует о том, что из 30 проб, классифицированных по концентрациям веществ как фальсификаты, 24 (80%) отнесены к фальсификатам по результатам их дегустационной оценки, а 6 проб (20%) – к винам низкого качества. Из представленных результатов следует, что классификации вин в номинальной шкале двумя различными методами – посредством дегустационной оценки и содержаниями в них летучих веществ

существенно отличаются. Для установления более объективного и более пригодного из них способа классификации для определения качества вин был применен дискриминантный анализ.

Дискриминантный анализ как раздел многомерного статистического анализа включает статистические методы классификации многомерных наблюдений в ситуации, когда исследователь обладает так называемыми обучающими выборками (классификация с обучением). Выборка является обучающей, если известна принадлежность объектов к тому или иному классу. Цель дискриминантного анализа состоит в том, чтобы на основе измерения различных характеристик (признаков, параметров) объекта классифицировать его, т. е. отнести к одной из нескольких групп (классов) некоторым оптимальным способом. Под оптимальным способом понимается либо минимум математического ожидания потерь, либо минимум вероятности ложной классификации. Применительно к решаемой нами задаче, объектами являются образцы вин, классами – группы вин. Характеризующие их признаки – массовые концентрации летучих компонентов вина – независимые переменные: $C_A, C_B, C_M, C_{HA}, C_{AA}, C_F$. Группирующие переменные, обозначающие классы, обозначены K_D – качество по дегустационной оценке, K_C – качество по концентрациям компонентов.

На первом этапе исследования посредством дискриминантного анализа была оценена степень различия по совокупности независимых показателей классов вин *высокое, среднее, низкое, фальсификат*, полученных при классификации вин по группирующей переменной *качество по концентрациям компонентов (K_C)*.

Итоги анализа представлены в таблице 71. Основные результаты дискриминантного анализа, характеризующие качество дискриминации проб вин, представлены в информационной части таблицы. Значения статистики лямбда Уилкса (λ) принадлежат интервалу от 0 до 1. Чем ближе λ к 0, тем лучше осуществлена дискриминация, и наоборот, чем ближе λ к 1, тем хуже дискриминация. Так как в данном случае лямбда Уилкса равна 0,0101, то можно утверждать, что построена достаточно адекватная модель дискриминации.

Таблица 71 – Результаты дискриминантного анализа образцов вин по содержаниям в них летучих веществ

N = 310	Итоги анализа дискриминантных функций Переменных в модели – 6; Группирование K_C , лямбда Уилкса – 0,0101					
	Уилкса лямбда	Частная Лямбда	F-исключ.	p-уров.	Толер.	1-толер. (R-кв.)
C_F	0,037	0,268	292,046	0,000	0,298	0,701
C_A	0,022	0,449	131,207	0,000	0,308	0,691
C_{HA}	0,020	0,497	107,957	0,000	0,541	0,458
C_E	0,017	0,570	80,399	0,000	0,168	0,831
C_{AA}	0,016	0,623	64,679	0,000	0,208	0,791
C_M	0,012	0,799	26,885	0,000	0,622	0,377

По значениям лямбды Уилкса из первого столбца можно судить о важности того или иного признака в процедуре дискриминации объектов, так как они являются результатом исключения соответствующей переменной из модели. Чем больше значение λ , тем более желательно присутствие этой переменной в процедуре дискриминации. Наименования летучих веществ указаны в таблице в порядке убывания λ , т.е. важности уровня содержания данного компонента в процедуре дискриминации: фурфурол, альдегиды, высшие спирты, этилацетата, уксусная кислота, метанол.

Значение *Partial Lambda* (частная лямбда) есть отношение лямбда Уилкса после добавления соответствующей переменной к лямбде Уилкса до добавления этой переменной. Частная лямбда характеризует единичный вклад соответствующей переменной в разделительную силу модели. Чем меньше статистика лямбда Уилкса, тем больше вклад в общую дискриминацию. *F-remove* (*F-исключить*) – это значения *F-критерия*, связанные с соответствующей частной лямбда Уилкса. Значения *p-уров* – это уровни значимости критериев *F-исключить*. Если *p* больше, чем 0,05, то переменную из модели можно исключить. Как видно из таблицы 71, все независимые переменные в дискриминантной модели статистически значимы.

Толерантность (*Toler*) определяется как $1-R^2$, где R^2 – это коэффициент множественной корреляции данной переменной со всеми другими переменными в модели. Толерантность является мерой избыточности переменной в модели.

В процедуре дискриминантного анализа строится математическая модель классификации наблюдений (образцы вин). Функции классификации – это линейные функции, которые строятся для каждого класса (*высокое, среднее, низкое, фальсификат*) и могут быть использованы для классификации вин. Вино следует отнести к тому классу, для которого классификационная функция имеет наибольшее значение. В таблице 72 приведены коэффициенты и свободные члены при переменных линейных функций для каждого класса. Над столбцами отображены априорные вероятности принадлежности вин к указанным классам, пропорциональные количеству проб вин в классах.

Таблица 72 – Параметры функции классификации наблюдений для различных категорий качества

Переменная	Функции классификации; группировка: K_C			
	высокое $p = 0,151$	среднее $p = 0,151$	низкое $p = 0,606$	фальсификат $p = 0,092$
C_A	-0,038	0,209	0,007	-0,017
C_E	0,040	-0,333	0,033	0,012
C_M	0,147	0,195	0,310	0,051
C_{HA}	0,071	0,096	0,127	0,016
C_{AA}	0,067	0,112	0,118	0,017
C_F	0,516	0,729	1,096	0,134
Константа	-28,239	-63,236	-93,798	-4,229

Для классов высокое, среднее, низкое, фальсификат введены следующие обозначения функций классификации: $F_{выс.}$, $F_{ср.}$, $F_{низ.}$, $F_{фальс.}$. В соответствии с таблицей 72 уравнения примут вид:

$$F_{выс.} = -28,239 - 0,038C_A + 0,04C_E + 0,147C_M + 0,071C_{HA} + 0,067C_{AA} + 0,516C_F \quad (13)$$

$$F_{ср.} = -63,236 + 0,209C_A - 0,333C_E + 0,195C_M + 0,096C_{HA} + 0,112C_{AA} + 0,729C_F \quad (14)$$

$$F_{низ.} = -93,798 + 0,007C_A + 0,033C_E + 0,31C_M + 0,127C_{HA} +$$

$$+ 0,118C_{AA} + 1,096C_F \quad (15)$$

$$F_{\text{фальс.}} = -4,229 - 0,017C_A + 0,012C_E + 0,051C_M + 0,016C_{HA} + \\ + 0,017C_{AA} + 0,134C_F \quad (16)$$

По классификационным функциям можно определить принадлежность вин к одному из рассмотренных классов, если известны концентрации летучих веществ: вино принадлежит тому классу, которому соответствует наибольшее значение классификационной функции. Например, определим качество вина «Каберне» с экспериментально установленными содержаниями летучих веществ, мг/дм³: $C_A = 2$, $C_E = 39$, $C_M = 156$, $C_{BC} = 200$, $C_Y = 72$, $C_F = 3$. По формулам (13–16) вычислены значения классификационных функций:

$$F_{\text{выс.}} = -28,239 - 0,038 \cdot 2 + 0,04 \cdot 39 + 0,147 \cdot 156 + 0,071 \cdot 200 + \\ + 0,067 \cdot 72 + 0,516 \cdot 3 = 16,749$$

$$F_{\text{ср.}} = -63,236 + 0,209 \cdot 2 - 0,333 \cdot 39 + 0,195 \cdot 156 + 0,096 \cdot 200 + \\ + 0,112 \cdot 72 + 0,729 \cdot 3 = 15,934$$

$$F_{\text{низ.}} = -93,798 + 0,007 \cdot 2 + 0,033 \cdot 39 + 0,31 \cdot 156 + 0,127 \cdot 200 + \\ + 0,118 \cdot 72 + 1,096 \cdot 3 = 6,953$$

$$F_{\text{фальс.}} = -4,229 - 0,017 \cdot 2 + 0,012 \cdot 39 + 0,051 \cdot 156 + 0,016 \cdot 200 + \\ + 0,017 \cdot 72 + 0,134 \cdot 3 = 8,987$$

Так как наибольшее значение классификационных функций равно 16,749 и соответствует классу *высокое*, то данное вино – высокого качества.

Об адекватности построенной модели дискриминации можно также судить по таблице 73, которая содержит информацию о количестве и проценте корректно классифицированных моделью вин по классам. Строки матрицы – исходное распределение по классам, установленное по содержаниям веществ, столбцы – предсказанные методом классы вин.

Таблица 73 – Матрица классификации вин по содержаниям в них летучих веществ

Группа	Матрица классификации. Строки: наблюдаемые классы. Столбцы: предсказанные классы				
	Процент правильных	высокое $p = 0,161$	среднее $p = 0,161$	низкое $p = 0,645$	фальсификат $p = 0,033$
Высокое	100,0000	50	0	0	0
Среднее	100,0000	0	50	0	0
Низкое	100,0000	0	0	200	0
Фальсификаты	100,0000	0	0	0	30
Всего	100,0000	50	50	200	30

Результаты таблицы 73 свидетельствуют, что все предсказанные классы вин совпали с исходными классами, и общий процент правильной классификации равен 100%.

На диаграмме рассеяния канонических значений, приведенной на рисунке 52, пробы вин для каждого класса изображены в виде одинаковых геометрических фигурок одного цвета.

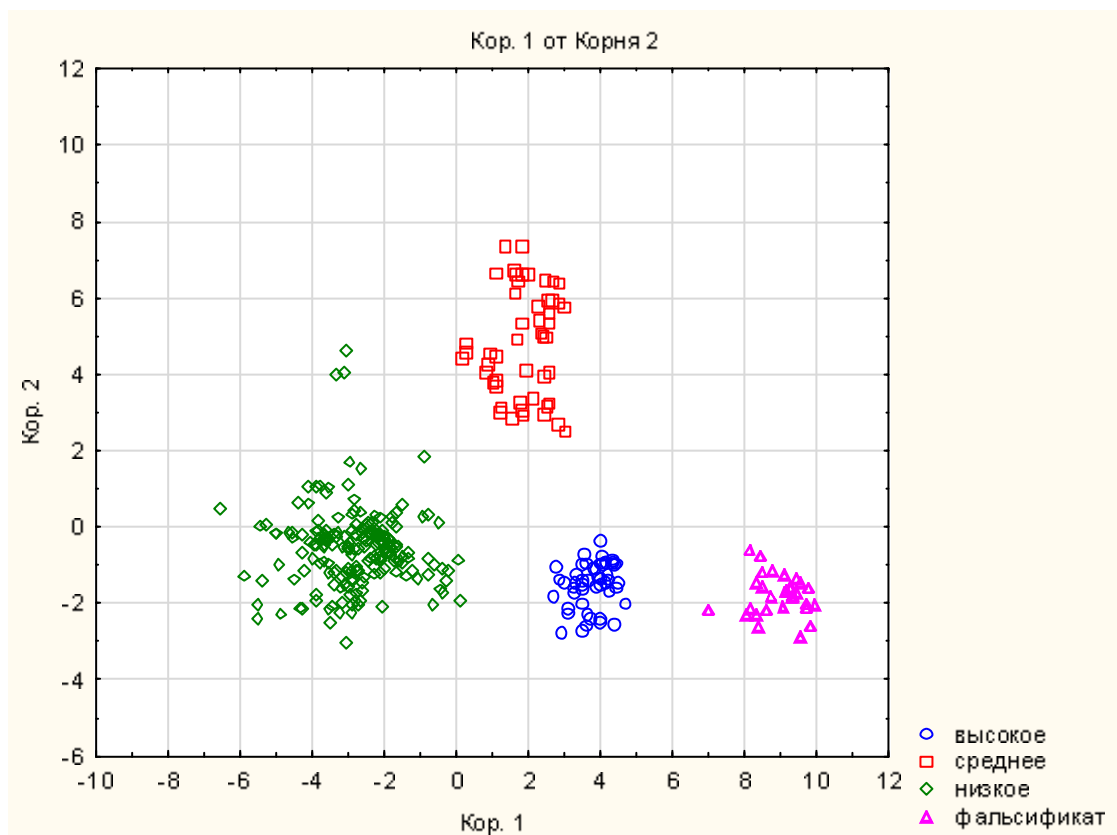


Рисунок 52 – Диаграмма рассеяния канонических значений содержания летучих веществ в винах

Фактически, диаграмма позволяет образцы вин, являющихся объектами в шестимерном пространстве (по числу выбранных летучих веществ), перенести в пространство размерности 2, сохранив порядок расстояний между ними. Чем меньше расстояние между кластерами геометрических фигурок, изображающих классы вин, тем больше сходство между ними по совокупности показателей, и наоборот, чем больше расстояние, тем более они различны. Из диаграммы видно, что кластеры вин, соответствующие четырем классам – *высокое, среднее, низкое, фальсификат*, локализованы в разных частях плоскости на значительном расстоянии друг от друга, что говорит об их существенном отличии и высоком сходстве (однородности) проб вин внутри каждого класса. Диаграмма дополнительно подтверждает возможность по результатам химического анализа вин посредством классификационных функций с высокой точностью определить их принадлежность к одному из четырех классов – *высокое, среднее, низкое, фальсификат*.

На втором этапе исследования посредством дискриминантного анализа была оценена степень различия по совокупности независимых показателей классов вин *высокое, среднее, низкое, фальсификат*, полученных при классификации вин по группирующей переменной *качество по дегустационной оценке (К_д)*, таблица 74.

Таблица 74 – Результаты дискриминантного анализа вин по их дегустационной оценке

N = 330	Итоги анализа дискриминантных функций					
	Переменных в модели: 6; Группировка: <i>КД</i> ; Лямбда Уилкса: 0,226					
	Уилкса лямбда	Частная лямбда	F-исключ.	p-уров.	Толер.	1-толер. (R-кв.)
C_A	0,256	0,880	14,573	0,000	0,314	0,685
C_E	0,254	0,886	13,670	0,000	0,236	0,763
C_M	0,239	0,945	6,112	0,000	0,439	0,560
C_{HA}	0,283	0,798	27,042	0,000	0,692	0,307
C_{AA}	0,257	0,877	14,875	0,000	0,226	0,773
C_F	0,338	0,668	53,110	0,000	0,504	0,495

Из информационной части таблицы следует, что *лямбда Уилкса* имеет достаточно большое значение – 0,226, что свидетельствует о слабой дискриминации, несмотря на то, что все независимые переменные (альдегиды, этилацетат, метанол, высшие спирты, уксусная кислота, фурфурол) в дискриминантной модели статистически значимы.

Из диаграммы рассеяния канонических значений, представленной на рисунке 53, видно, что кластеры образцов вин не локализованы в различных частях плоскости, а имеют значительную общую область.

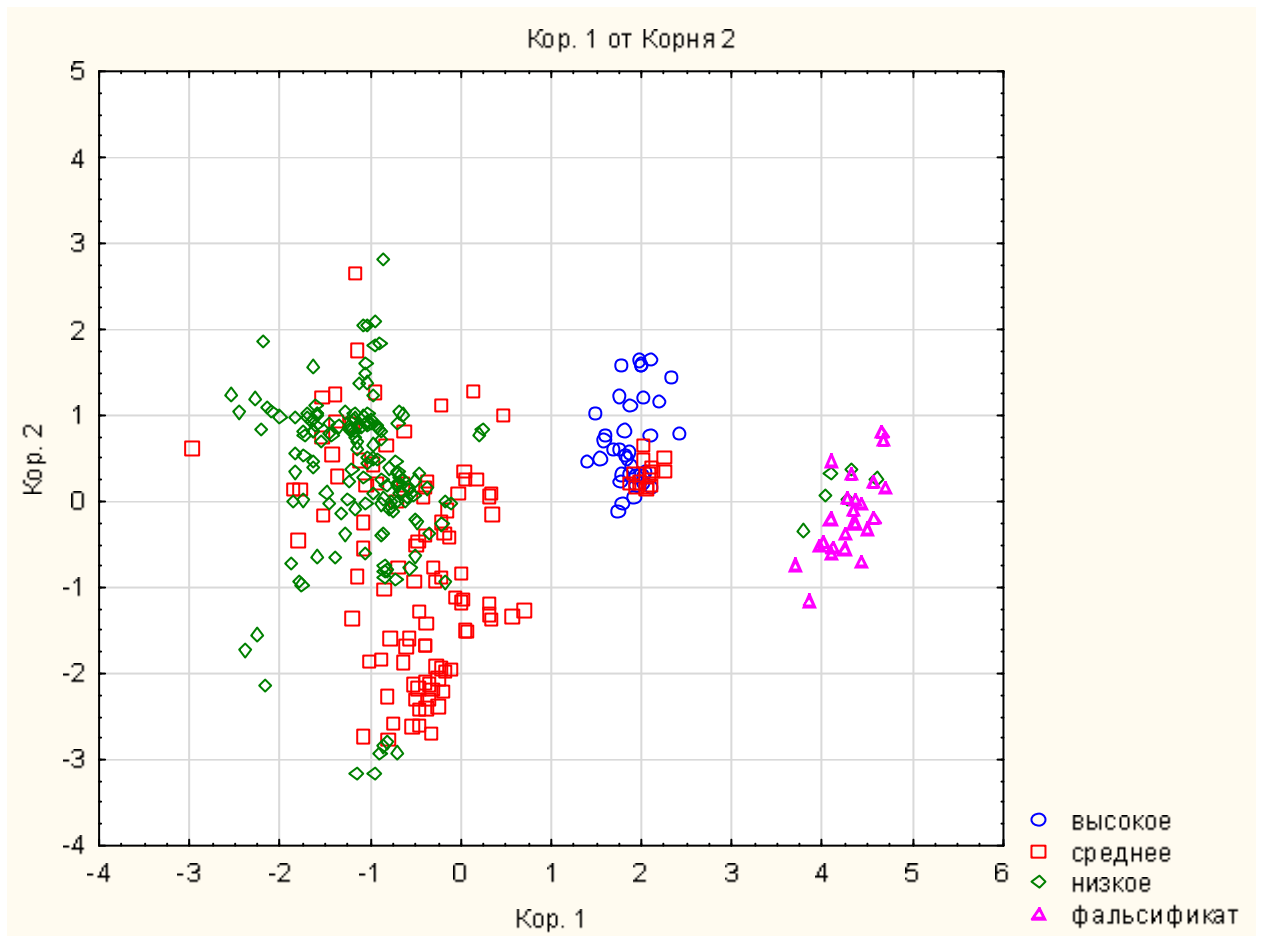


Рисунок 53 – Диаграмма рассеяния канонических значений дегустационной оценки вин

Это означает, что классы *высокое*, *среднее*, *низкое* по группирующей переменной K_d не имеют четкой кластерной структуры. Следовательно, данные классы не обладают достаточной однородностью проб вин внутри классов и не являются в достаточной степени неоднородными между собою. Поэтому, эти группы вин слабо различимы по совокупности показателей C_A , C_B , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F ,

что приводит к ошибочным результатам при оценке качества вин в номинальной шкале по результатам дегустационных оценок. По-видимому, это связано с тем, что дегустаторы затрудняются достаточно четко в баллах идентифицировать близкие по качеству вина – высокого и среднего качества, среднего и низкого качества, так как балльная шкала является, все же, весьма приближенной.

О неудовлетворительной адекватности построенной модели дискриминации можно судить по данным таблицы 75, которая содержит информацию о количестве и проценте корректно классифицированных программой вин по классам. Видно, что при помощи построенной модели дискриминации все вина (100%) классов *высокое* и *фальсификат* верно классифицированы, т.е. предсказанные и исходные классы совпали, но для классов *среднее* и *низкое* проценты правильной классификации составили соответственно 53 и 87%, а общий процент равен 78%.

Таблица 75 – Матрица классификации вин по их дегустационной оценке

Группа	Матрица классификации (Таблица сокр)				
	Строки: наблюдаемые классы Столбцы: предсказанные классы				
	% правиль.	высокое p = 0,109	среднее p = 0,336	низкое p = 0,481	фальсификат p = 0,074
Высокое	100,0000	36	0	0	0
Среднее	53,1531	14	59	38	0
Низкое	87,4214	0	14	139	6
Фальсификат	100,0000	0	0	0	24
Всего	78,1818	50	73	177	30

Попытки изменить условия классификации вин по значениям их дегустационной оценки – варьировались диапазоны дегустационной оценки для классов *высокое*, *среднее*, *низкое*, *фальсификат*, не привели к улучшению кластерной структуры образцов вин. Возможно, это связано с высокой субъективностью самой процедуры дегустации, так как на ее результаты влияет большое количество случайных факторов, определяющих состояние экспертов.

Таким образом, классификация вин по содержаниям в них летучих веществ, осуществленная при помощи дискриминантного анализа, является более объективной, а значит и более пригодной при определении их качества, чем классификация по результатам их дегустационной оценки. Это связано с тем, что первый способ позволяет классифицировать более неоднородные группы вин, чем второй. В таблице 76 отображены средние значения содержаний компонентов в образцах вин в каждом из классов – *высокое, среднее, низкое, фальсификат*.

Таблица 76 – Средние значения содержаний летучих веществ в винах, мг/дм³

Категория качества	C_A среднее	C_E среднее	C_M среднее	C_{HA} среднее	C_{AA} среднее	C_F среднее
Высокое	35,360	57,180	54,960	245,320	346,720	5,500
Среднее	166,740	58,460	51,440	241,060	624,300	5,380
Низкое	62,745	77,980	100,510	355,950	504,835	43,450
Фальсификат	6,533	15,533	18,700	42,000	91,633	2,600
Всего	69,242	66,193	78,736	293,239	461,415	28,218

Как итог, справедливым будет утверждение, что классификация вин с помощью экспертных (дегустационных) оценок уступает классификации вин с учетом содержаний компонентов по данным химического анализа. Оценку качества вин в номинальной шкале *высокое, среднее, низкое и фальсификат*, при наличии информации по содержаниям в вине летучих веществ – ацетальдегида, этилацетата, метанола, фурфурола, высших спиртов, уксусной кислоты, целесообразно осуществлять при помощи классификационных уравнений (13–16), которые были получены методом дискриминантного анализа.

2.7.4 Применение дискриминантного анализа

и метода общих линейных моделей для оценки качества вина

Рассмотрена возможность применения дискриминантного анализа и метода общие линейные моделей (ОЛМ), реализованных в пакете *STATISTICA 10*, для первоначальной оценки качества вин в номинальной шкале – *высокое, среднее, низкое и фальсификат* по содержанию в них летучих веществ, с последующим прогнозом в балльной шкале дегустационной оценки [322].

В разделе 2.7.2. показано, что одним из способов предсказания дегустационной оценки при помощи математической модели является ее вычисление по уравнению множественной регрессии, в котором в качестве зависимой переменной (отклика) выступает дегустационная оценка, а независимыми переменными (предикторами) – содержание летучих веществ.

Построение уравнения множественной регрессии различной полиномиальной сложности для широкого спектра вин, включая фальсификаты, не дали положительного результата. Статистики, определяющие качество модели линейной регрессии ($R = 0,44$, $R^2 = 0,194$), описывали 19% изменчивости отклика и, следовательно, были не пригодны для прогнозирования дегустационной оценки.

Результаты статистического анализа исходных данных, приведенные в разделе 2.7.3 показали, что причиной неадекватности регрессионных моделей является значительное межгрупповое отличие содержания летучих веществ, причем наибольшее отличие у фальсификатов, что приводит к существенной неоднородности групп относительно содержания летучих веществ. С другой стороны, диаграмма, представленная на рисунке 52 п. 2.7.3, говорит о возможности по химическому анализу вин (содержанию летучих веществ) посредством классификационных функций с высокой точностью определить их принадлежность к одному из четырех классов: *высокое, среднее, низкое, фальсификат* – вино принадлежит к тому классу, которому соответствует

наибольшее значение классификационной функции. Возможность прогноза класса качества вин, обосновывают применение непараметрического метода общие линейные модели для предсказания дегустационной оценки по значениям количественных предикторов – содержанию летучих веществ и категориального (качественного) предиктора – класса качества, к которому принадлежит анализируемое вино.

Итоги проведенных вычислений показали, что в целом, построена достаточно адекватная модель взаимосвязи отклика с предикторами, так коэффициент множественной корреляции $R = 0,910$ и близок к 1, коэффициент детерминации $R^2 = 0,828$ значительно больше, чем 0,5, а построенная регрессионная модель описывает примерно 83% изменчивости отклика – дегустационной оценки.

В общей линейной модели при помощи сигма-ограниченной параметризации категориальные переменные закодированы специальным образом, отображенным в таблице *Метки столбцов* (таблица 77) так, что каждый категориальный предиктор представляется в виде совокупности одноименных двухуровневых предикторов.

Таблица 77 – Метки столбцов в общей линейной модели

Метка	Метки столбцов для столбцов матрицы плана			
	столбец	переменная	уровень переменной	уровень переменной
Свободный член уравнения	1			
C_A	2	C_A		
C_E	3	C_E		
C_M	4	C_M		
C_{HA}	5	C_{HA}		
C_{AA}	6	C_{AA}		
C_F	7	C_F		
Класс качества ₁	8	Класс качества ₁	Высокое	Фальсификат
Класс качества ₂	9	Класс качества ₂	Среднее	Фальсификат
Класс качества ₃	10	Класс качества ₃	Низкое	Фальсификат

В терминологии модуля общие линейные модели предикторы называются эффектами. Так как категориальный предиктор *класс качества* имеет 4 уровня, то он представляется в виде трех одноименных двухуровневых эффектов:

- *класс качества*₁ с уровнями *высокое*, *фальсификат*;
- *класс качества*₂ с уровнями *среднее*, *фальсификат*;
- *класс качества*₃ с уровнями *низкое*, *фальсификат*.

При вычислении отклика – дегустационной оценки уровню 1 будет присвоено числовое значение 1, а уровню 2 – числовое значение 0, или – 1.

В соответствии с данной кодировкой, если образец вина принадлежит к классу *высокое*, то переменной *класс качества*₁ будет присвоено значение 1, переменным *класс качества*₂ и *класс качества*₃ – 0. Если образец вина принадлежит к классу *среднее*, то переменной *класс качества*₂ будет присвоено значение 1, переменным *класс качества*₁ и *класс качества*₃ – 0. Если образец вина принадлежит к классу *низкое*, то переменной *класс качества*₃ будет присвоено значение 1, переменным *класс качества*₁ и *класс качества*₂ – 0. Если образец вина принадлежит к классу *фальсификат*, то всем переменным будет присвоено значение – 1. Итоги регрессионного анализа отображены в таблице 78.

Таблица 78 – Оценки параметров общей линейной модели

Эффект	Оценки параметров. Сигма-ограниченная параметризация					
	уровень эффекта	оценка параметров	оценка ст. ош.	оценка <i>t</i>	оценка <i>p</i>	оценка <i>BETA</i>
Свободный член уравнения		71,937	1,35	53,230	0,000	
<i>C_A</i>		-0,030	0,007	-4,054	0,000	-0,257
<i>C_E</i>		0,005	0,013	0,398	0,690	0,026
<i>C_M</i>		0,022	0,008	2,684	0,008	0,121
<i>C_{HA}</i>		-0,003	0,002	-1,490	0,137	-0,062
<i>C_{AA}</i>		-0,002	0,002	-0,846	0,398	-0,059
<i>C_F</i>		-0,019	0,015	-1,213	0,225	-0,072
Класс качества₁	Высокое	10,938	0,498	21,960	0,000	0,758
Класс качества₂	Среднее	5,983	0,852	7,018	0,000	0,415
Класс качества₃	Низкое	-1,946	0,984	-1,977	0,048	-0,181

В столбце *уровень эффекта* приведены уровни эффекта *класс качества*, которым будет присвоено значение 1. В столбце *оценка параметров* отображены коэффициенты регрессионного уравнения. В столбце *оценка ст. ош.* представлены стандартные ошибки коэффициентов, которые определяются как стандартное отклонение коэффициента, деленное на объем выборки, и характеризуют точность вычисления параметров. Для всех эффектов, за исключением свободного члена, стандартные ошибки значительно меньше оцениваемых параметров. В столбцах *оценка t* и *оценка p* приведены значения *t-критерия* (критерия Стьюдента) и соответствующие им уровни значимости *p* для оценки значимости параметров уравнения. Так как *p* эффектов C_E , C_{HA} , C_{AA} , C_F больше, чем 0,05, то соответствующие им параметры статистически не значимы и в принципе из общей линейной модели могут быть удалены. Статистически значимые параметры ($p < 0,05$) выделены полужирным курсивом.

Так, в отклик *дегустационная оценка* наибольший статистически значимый вклад вносит предиктор *класс качества₁* ($BETA = 0,758$), а наименьший – *этишицетат* ($BETA = 0,026$). Если ввести дополнительные обозначения: *класс качества₁* – QC_1 ; *класс качества₂* – QC_2 ; *класс качества₃* – QC_3 , то уравнение регрессии примет вид –

$$Est = 71,937 - 0,03C_A + 0,005C_E + 0,022C_M - 0,003C_{HA} - 0,002C_{AA} - 0,019C_F + 10,938 QC_1 + 5,983 QC_2 - 1,946 QC_3 \quad (17)$$

Дополнительным подтверждением адекватности построенных регрессионных моделей является сходство распределения остатков нормальному закону, со средним значением, равным 0. Остатки представляют собою разность между эмпирическими (заданными) значениями дегустационной оценки и значениями, вычисленными по модели регрессии. Из графика на рисунке 54 видно, что гистограмма распределения остатков визуально соответствует нормальному закону. Уровень значимости $p = 0,192$ критерия *Хи-квадрат* (Пирсона), приведенный в верхней информационной части графика, значительно превышающий 0,05, является статистическим обоснованием соответствия

распределения остатков нормальному закону. Середина гистограммы также приходится на значение, близкое к 0.

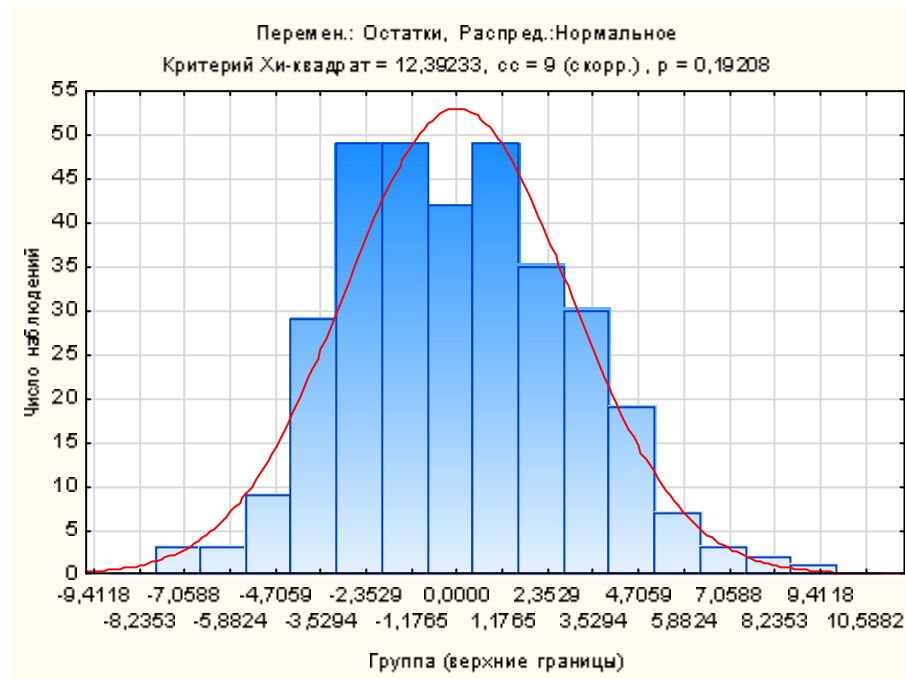


Рисунок 54 – Гистограмма распределения остатков

В соответствии с приведенными выше вероятностно-статистическими моделями можно предложить простой алгоритм предсказания дегустационной оценки состоящий из 3 шагов, если известно содержание C_A , C_E , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F .

Шаг 1. По значениям C_A , C_E , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F , при помощи классификационных уравнений (13-16) из раздела 2.7.3 вычисляют значения классификационных функций: $F_{высокое}$, $F_{среднее}$, $F_{низкое}$, $F_{фальсификат}$.

Шаг 2. Находим максимальное значение классификационных функций и, по правилу – вино принадлежит к тому классу, которому соответствует наибольшее значений классификационной функции, определяют качество вина в номинальной шкале: *высокое, среднее, низкое, фальсификат*.

Шаг 3. По общему линейному уравнению вычисляем прогнозное значение дегустационной оценки.

Например, определим качество *фальсификата 1* из таблицы 69, п.2.7.2, для которого $C_A = 5$, $C_E = 22$, $C_M = 4$, $C_{HA} = 63$, $C_{AA} = 20$, $C_F = 0$.

Шаг. 1. По формулам (13–16) вычислим значения классификационных функций:

$$F_{\text{высокое}} = -28,239 - 0,038 \cdot 5 + 0,04 \cdot 22 + 0,147 \cdot 4 + 0,071 \cdot 63 + \\ + 0,067 \cdot 20 + 0,516 \cdot 0 = -21,148$$

$$F_{\text{среднее}} = -63,236 + 0,209 \cdot 5 - 0,333 \cdot 22 + 0,195 \cdot 4 + 0,096 \cdot 63 + \\ + 0,112 \cdot 20 + 0,729 \cdot 0 = -60,449$$

$$F_{\text{низкое}} = -93,798 + 0,007 \cdot 5 + 0,033 \cdot 22 + 0,31 \cdot 4 + 0,127 \cdot 63 + \\ + 0,118 \cdot 20 + 1,096 \cdot 0 = -83,478.$$

$$F_{\text{фальсификат}} = -4,229 - 0,017 \cdot 5 + 0,012 \cdot 22 + 0,051 \cdot 4 + 0,016 \cdot 63 + \\ + 0,017 \cdot 20 + 0,134 \cdot 0 = -2,498.$$

Шаг 2. Наибольшее значение классификационных функций равно $-2,498$ и соответствует классу *фальсификат*, поэтому вино – *фальсификат*.

Шаг 3. Вычислим прогнозное значение дегустационной оценки по уравнению (6), подставив в него значения $C_A = 5$, $C_E = 22$, $C_M = 4$, $C_{HA} = 63$, $C_{AA} = 20$, $C_F = 0$, $Q_{C1} = -1$, $Q_{C2} = -1$, $Q_{C3} = -1$:

$$Est = 71,937 - 0,03 \cdot 5 + 0,005 \cdot 22 + 0,022 \cdot 4 - 0,003 \cdot 63 - 0,002 \cdot 20 + 0,019 \cdot 0 - \\ - 10,938 \cdot 1 - 5,983 \cdot 1 + 1,946 \cdot 1 = 56,781 \approx 57.$$

Предсказанное математической моделью значение дегустационной оценки незначительно отличается от дегустационной оценки выставленной экспертами – 60 баллов.

Таким образом, интеграция двух статистических методов – дискриминантного анализа и общих линейных моделей позволила получить более достоверный прогноз дегустационной оценки для вин широкого спектра качества – от фальсификатов, полученных на основе спирта ректификата до вин высокого качества.

Для автоматизации вычислений, в соответствии с предложенным алгоритмом был разработан программный модуль [323], который позволяет по концентрациям летучих веществ сначала определить качество вина в номинальной шкале, а далее с учетом принадлежности вина к одному из четырех классов – *высокое*, *среднее*, *низкое*, *фальсификат* вычислить прогнозное значение дегустационной оценки (рисунок 55).

Оценка качества вин по концентрациям летучих веществ методом общие линейные модели

Ацетальдегид	2
Этилацетат	39
Метанол	156
Высшие спирты	200
Уксусная кислота	72
Фурфурол	3

Оценить качество вина в номинальной шкале

Качество вина: Вино высокого качества

Прогноз дегустационной оценки

Дегустационная оценка = 85,641

Рисунок 55 – Стартовое окно программного модуля

2.7.5 Применение позиционного анализа

как метода оценки согласованности экспертных оценок

Во многих областях знания и практической деятельности измерение переменных как количественных величин в принципе невозможно. Одним из способов решения данной проблемы являются экспертные оценки – это оценки специалистами (экспертами) объектов, или явлений в порядковой (балльной) шкале, если нет возможности произвести измерения посредством приборов. Так как экспертные оценки основываются на суждениях специалистов, то им свойственна определенная субъективность. Среди существующих способов формирования экспертных оценок наиболее часто применяют ранжирование, парное сравнение, непосредственную балльную оценку [324]. Балльная оценка является наиболее информативным методом, так как позволяет не только

упорядочить объекты по степени предпочтения, но и дает возможность оценить в какой степени один объект предпочтительнее другого.

Как правило, экспертные оценки осуществляются несколькими экспертами. Очевидно, что чем больше разброс во мнениях экспертов, тем менее надежной будет экспертиза, поэтому одним из показателей надежности экспертизы является единодушие, или согласованность экспертов.

Существуют различные методы оценки согласованности экспертных оценок, которые зависят от способов измерения объектов. Если использовано ранжирование объектов, то применяют коэффициент ранговой корреляции Спирмена – для сравнения двух объектов, или коэффициент конкордации Кендалла – если сравниваются более двух объектов. При использовании балльных оценок возможно применение таких статистик как

– размах – разница между минимальной и максимальной оценкой экспертов i -го объекта

$$R_i = (x_{max})_i - (x_{min})_i; \quad (18)$$

– выборочное среднее квадратичное отклонение

$$S_i = \sqrt{S_i^2}, \quad (19)$$

где S_i^2 – выборочная дисперсия;

$$S_i^2 = \frac{1}{(n-1)} \sum_{j=1}^n d_j = \frac{1}{(n-1)} \sum_{j=1}^n [(x_{ij}) - \bar{x}_i]^2; \quad (20)$$

– выборочный коэффициент вариации

$$V_i = \frac{S_i}{x_i} 100\%. \quad (21)$$

Существенным недостатком приведенных статистик является то, что они принимают значения в неограниченном диапазоне, и сказать, что приемлемое единодушие экспертов, а значит, и надежность экспертизы достигнута, затруднительно. Для коэффициента вариации принято считать, что если все V_i меньше чем 30, то согласованность экспертов удовлетворительная, если все V_i

меньше чем 20, то согласованность экспертов хорошая. Другим недостатком указанных статистик является то, что количество каждого из них равно числу объектов экспертизы n , т.е. ни один из них не является интегральным показателем, характеризующим качество оценки объектов в совокупности.

Можно перевести оценки из бальной шкалы в ранговую шкалу с последующим вычислением коэффициента конкордации Кендалла. Но переход к более «бедной шкале» сопровождается значительной потерей информации, например, если трем объектам экспертом выставлены баллы 81, 85, 88, то в ранговой шкале этим баллам будут поставлены в соответствие значения 1, 2, 3, тем самым произойдет нивелирование разности баллов в оценке объектов.

Метод Надежность и позиционный анализ разрабатывался для построения надежных анкет (шкал) в психологии, в частности, использования статистики *альфа Кронбаха* для оценки надежности (согласованности) экспертных оценок. Оценивание надежности шкалы основано на корреляциях между индивидуальными позициями или измерениями, составляющими шкалу, и дисперсиями этих измерений. Результаты каждого измерения при заполнении анкеты – это баллы, описывающие отношение респондента к данной позиции анкеты, включают в себя как истинное значение, так и частично неконтролируемую, случайную погрешность:

$$X = a + \delta, \quad (22)$$

где X – результат измерения, т.е. отклик респондента на утверждение анкеты, a – обозначает неизвестное истинное значение; δ – случайная ошибка или погрешность измерения. Выписанное уравнение позволяет формализовать определение надежности: измерение является надежным, если его основную часть, по отношению к погрешности, составляет истинное значение. Поэтому, в качестве статистики или критерия надежности утверждения (позиции анкеты) применяют отношение вариации (изменчивости) истинного значения, присущей респондентам, к общей вариации измерения

$$\eta = \sigma_a^2 / \sigma_x^2 \quad (23)$$

где η – надежность, σ_a^2 – дисперсия истинного значения, σ_x^2 – дисперсия реального измерения.

В качестве общепринятого индекса надежности анкеты применяют статистику – *альфа Кронбаха* (α):

$$\alpha = (n/(n-1)) * [1 - \Sigma (s_i^2)/s_{\text{сум}}^2] \quad (24)$$

где s_i^2 – выборочная дисперсия i -го утверждения, $s_{\text{сум}}^2$ – выборочная дисперсия суммарной шкалы (суммарной оценки респондентов).

Эта статистика позволяет оценить долю дисперсии (изменчивости) истинного значения по совокупности всех утверждений анкеты – суммарной шкалы, путем сравнения суммы дисперсий отдельных утверждений – $\Sigma(s_i^2)$ с дисперсией суммарной шкалы $s_{\text{сум}}^2$.

Если не существует истинного значения, а присутствует только случайная погрешность в оценке респондентами своего отношения к утверждениям анкеты, дисперсия суммарной шкалы будет такой же, как сумма дисперсий отдельных утверждений (отдельного эксперта), т.е.

$$\Sigma(s_i^2) = s_{\text{сум}}^2, \quad (25)$$

в этом случае статистика α будет равна 0. Если все утверждения совершенно надежны и измеряют одно и то же истинное значение, то коэффициент α будет равен 1, так как $\Sigma(s_i^2)/s_{\text{сум}}^2 = 1/n$. Естественно в реальных случаях можно говорить лишь о близости α к 0, или 1, очевидно, что чем ближе α к 1, тем анкета надежнее.

Так как согласованность мнений экспертов (единодушие) также зависит от величины разброса баллов при оценке объектов, это позволяет использовать статистику *альфа Кронбаха* в качестве интегрального показателя надежности экспертизы. Применительно к экспертным оценкам в качестве респондентов целесообразно рассматривать экспертов, проводящих экспертизу, а в качестве позиций анкеты – объекты, подвергнутые экспертизе.

Обработка экспертных оценок – это проверка согласованности мнений экспертов (или классификация экспертов, если нет согласованности) и усреднение

мнений экспертов внутри согласованной группы. Дегустация пищевых продуктов является основным свойством оценки вкусовых качеств испытуемых образцов посредством анализа их органолептических свойств [301].

При проведении органолептического анализа вин результаты дегустации могут быть обработаны с помощью критерия χ^2 – критерия, при малом числе ответов можно использовать критерий Фишера, а для определения порога восприятия – теорию обнаружения импульса. Установить различие или подобие между двумя однородными продуктами по интенсивности исследуемой характеристики позволяет метод парного сравнения. Однако, в таких случаях как оценка результатов органолептических различительных испытаний есть значительная доля субъективности, которая зависит от индивидуальной чувствительности испытуемых, что затрудняет сделать общее заключение относительно воспроизводимости результатов, применимое к любой группе испытуемых.

В качестве исходных данных оценки согласованности (единодушия) экспертов использовали результаты дегустационных испытаний качества вин, полученные в ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» (таблица 79). Экспертами в количестве 13 человек была проведена дегустация 28 образцов вин по 100 балльной шкале.

Таблица 79 – Результаты дегустации испытуемых образцов вин

№ эксперта	Образцы вин (1–19)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Эксперт 1	85	80	83	85	88	81	84	84	87	87	80	85	83	82	85	88	84	84	83
Эксперт 2	82	80	80	84	83	88	88	88	80	83	84	86	88	83	82	88	87	84	83
Эксперт 3	82	84	79	80	82	87	88	87	78	81	83	84	87	81	82	88	88	84	78
Эксперт 4	87	83	79	84	81	84	85	84	82	82	80	84	90	83	81	91	83	80	79
Эксперт 5	84	80	80	81	80	81	83	83	84	86	82	86	81	80	82	85	82	80	80
Эксперт 6	85	81	82	80	80	83	80	85	82	84	85	85	77	82	80	75	86	77	78
Эксперт 7	84	81	82	81	79	80	83	86	87	82	84	82	78	81	81	83	84	81	80
Эксперт 8	83	80	81	81	79	78	81	83	85	83	78	81	78	85	80	82	80	85	78
Эксперт 9	86	71	98	98	75	88	89	84	88	82	80	97	98	89	98	90	86	86	78
Эксперт 10	83	81	83	84	83	77	83	84	86	80	79	85	80	84	81	84	89	86	82
Эксперт 11	85	80	83	85	81	69	66	85	76	73	71	81	60	68	64	69	65	81	72
Эксперт 12	89	80	82	100	87	82	83	85	88	80	70	85	91	81	63	82	84	77	73
Эксперт 13	85	80	83	85	81	81	83	84	84	82	80	88	86	89	86	90	92	90	90

№ эксперта	Образцы вин (20–28)									Сумма
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
Эксперт 1	88	84	87	87	86	84	86	90	90	2380
Эксперт 2	89	80	84	89	87	82	88	90	90	2380
Эксперт 3	89	80	80	89	86	79	89	92	89	2356
Эксперт 4	91	84	81	83	82	80	90	91	91	2355
Эксперт 5	90	82	80	82	81	78	90	90	80	2313
Эксперт 6	95	81	84	80	83	80	90	92	93	2325
Эксперт 7	86	82	82	83	84	82	85	86	86	2315
Эксперт 8	85	80	79	79	83	80	84	86	87	2284
Эксперт 9	98	88	86	86	86	86	96	86	98	2471
Эксперт 10	85	85	98	91	87	86	99	94	97	2396
Эксперт 11	71	61	74	68	71	64	93	86	72	2074
Эксперт 12	84	75	80	78	87	71	87	85	90	2299
Эксперт 13	90	88	92	88	94	90	94	94	94	2443

Строки обозначают экспертов (дегустаторов), столбцы – образцы вин. В последнем столбце таблицы отображена сумма баллов, выставленных каждым экспертом, называемая в терминологии позиционного анализа суммарной шкалой.

В терминологии позиционного анализа таблица – это анкета. Строки, обозначающие экспертов, – это респонденты. Столбцы, обозначающие образцы вин, – это позиции (утверждения) анкеты.

Перед тем, как перейти к анализу надежности, исследуем описательные статистики измерений. В таблице 80 отображены средние, стандартные отклонения, дисперсии, коэффициенты вариации для всех 28 образцов. Как видно из таблицы, средние значения оценок всех экспертов принимают значения от 80 до 90, что свидетельствует о высокой изменчивости мнений экспертов. Наибольший средний балл у образца 26 ($\bar{x} = 90,08$), наименьший – у образца 19 ($\bar{x} = 79,54$). Размах R составляет $90,08 - 79,54 = 10,54 \approx 11$. При этом образцам 13, 15, 28 соответствуют наибольшие разбросы, стандартные отклонения равны соответственно 9,2; 8,87; 6,93. Наименьшие разбросы у образцов 8, 1, 2 – стандартные отклонения равны соответственно 1,98; 3,01; 4,84.

Таблица 80 – Описательные статистики экспертных оценок качества вин

Переменные	Средние, стандартные отклонения, дисперсии			
	Средние \bar{x}	Стандартные отклонения s_i	Дисперсии s_i^2	Коэффициенты вариации V_i (%)
Образец 1	84,62	1,98	3,92	2,34
Образец 2	80,08	3,01	9,08	3,76
Образец 3	82,69	4,84	23,40	5,85
Образец 4	85,23	6,42	41,19	7,53
Образец 5	81,46	3,38	11,44	4,15
Образец 6	81,46	5,13	26,27	6,29
Образец 7	82,77	5,72	32,69	6,91
Образец 8	84,77	1,48	2,19	1,75
Образец 9	83,62	3,84	14,76	4,59
Образец 10	81,92	3,38	11,41	4,12
Образец 11	79,69	4,61	21,23	5,78
Образец 12	85,31	4,05	16,40	4,75
Образец 13	82,85	9,20	84,64	11,10
Образец 14	82,15	5,13	26,31	6,24
Образец 15	80,38	8,87	78,59	11,03
Образец 16	84,23	6,35	40,36	7,54
Образец 17	83,85	6,48	41,97	7,73
Образец 18	82,69	3,77	14,23	4,56
Образец 19	79,54	4,56	20,77	5,73
Образец 20	87,77	6,42	41,19	7,31
Образец 21	80,77	6,91	47,69	8,55
Образец 22	83,62	6,17	38,09	7,38
Образец 23	83,31	6,20	38,40	7,44
Образец 24	84,38	5,17	26,76	6,13
Образец 25	80,15	6,69	44,81	8,35
Образец 26	90,08	4,41	19,41	4,89
Образец 27	89,38	3,23	10,42	3,61
Образец 28	89,00	6,93	48,00	7,78

На рисунке 56 приведены графики *диаграмм размаха* экспертных оценок. Диаграммы размаха позволяют визуально оценить степень симметричности распределений дегустационных баллов, среднее (медиану), изменчивость (квартильный размах – расстояние между 75 и 25% процентилями), размах – расстояние между наибольшим и наименьшим значением. Квартильный размах и размах характеризуют разброс дегустационных оценок образцов вин.

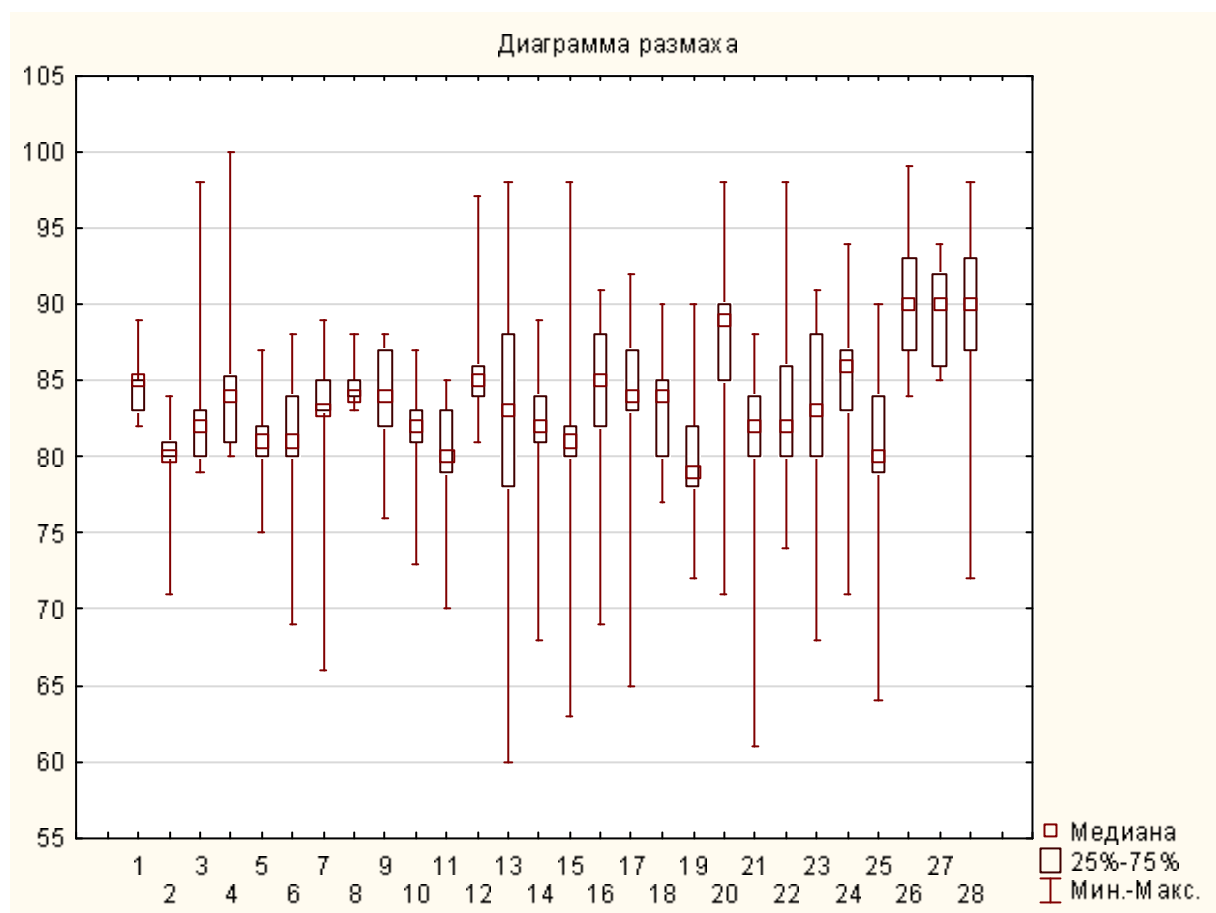


Рисунок 56 – Диаграммы размаха экспертных оценок качества вин

Из графика видно, что распределения баллов преимущественно не симметричны, исключением является образец 15. Этот результат легко объяснить отклонением эмпирических распределений дегустационных баллов от нормального закона. Наибольшая медиана (медиана применяется для оценки среднего при несимметричных распределениях) у последних трех образцов 26, 27, 28, равная 90, свидетельствует о высокой оценке качества этих образцов дегустаторами. Наименьшая медиана у образца 19, которому также соответствует наименьшее значение среднего. При этом следует обратить внимание на то, что относительно небольшие разбросы в оценке качества у образцов вин 8, 1, 27, 2, 5, 9, 10, 18, и достаточно большие у образцов 13, 15, 25, 28, 17.

Все, что было рассмотрено выше, относится к исследованию описательных статистик, позволяющих получить общие характеристики результатов дегустации. Для анализа согласованности мнений дегустаторов использовали

данные таблицы 81, в информационной части которой отображены основные статистики суммарной шкалы – суммы баллов, предоставленных экспертами для каждого образца вин (последний столбец таблицы 79). Среднее значение суммарной шкалы равно 2337,77, стандартное отклонение равно 96,47. В информационной части таблицы приведены две оценки надежности суммарной шкалы *альфа Кронбаха* для балльной (0,94) и стандартизованной (0,93) шкалы, которая получается, если применить нормирование измерений шкалы. Нормирование переменной заключается в вычитании из каждого значения среднего значения и делении результата на стандартное отклонение. Нормирование применяют, если разные позиции предполагают разную систему балльной оценки. Оба значения *альфы Кронбаха* принимают относительно близкие к 1 значения, что говорит о достаточно высоком единодушии экспертов, а значит и о надежности экспертных оценок.

Показатели, приведенные в первых трех столбцах таблицы, позволяют ответить на вопрос, как изменятся основные статистики суммарной шкалы при удалении из результатов дегустации соответствующего образца вина. В столбце 4 отображены множественные корреляции между оценками экспертов и суммарной шкалой, если удалить оценки данного образца. Наибольший интерес представляет последний столбец, в котором приведены значения *альфы Кронбаха* при удалении данного образца.

Таблица 81 – Итоги позиционного анализа дегустационной оценки качества вин*

Переменная	Среднее при удал.	Дисперс. при удал.	Ст.откл. при удал.	Общ-Поз. коррел.	Альфа при удал.
Образец 1	2253,15	8613,98	92,81	-0,08	0,9459
Образец 2	2257,69	8760,52	93,60	-0,33	0,9480
Образец 3	2255,08	8306,38	91,14	0,31	0,9447
Образец 4	2252,54	8411,33	91,71	0,12	0,9479
Образец 5	2256,31	8651,14	93,01	-0,12	0,9471
Образец 6	2256,31	7931,29	89,06	0,72	0,9406
Образец 7	2255,00	7726,92	87,90	0,86	0,9389
Образец 8	2253,00	8601,39	92,74	-0,05	0,9456
Образец 9	2254,15	8246,75	90,81	0,49	0,9430
Образец 10	2255,85	8232,90	90,74	0,59	0,9425
Образец 11	2258,08	8174,53	90,41	0,49	0,9430
Образец 12	2252,46	8107,79	90,04	0,67	0,9416
Образец 13	2254,92	7313,15	85,52	0,79	0,9400
Образец 14	2255,61	7773,16	88,17	0,91	0,9387
Образец 15	2257,39	7394,55	85,99	0,77	0,9403
Образец 16	2253,54	7671,17	87,59	0,82	0,9391
Образец 17	2253,92	7577,92	87,05	0,90	0,9381
Образец 18	2255,08	8263,30	90,90	0,48	0,9432
Образец 19	2258,23	8053,10	89,74	0,66	0,9415
Образец 20	2250,00	7676,46	87,62	0,81	0,9393
Образец 21	2257,00	7475,23	86,46	0,93	0,9374
Образец 22	2254,15	7835,98	88,52	0,69	0,9409
Образец 23	2254,46	7648,56	87,46	0,87	0,9385
Образец 24	2253,39	7821,16	88,44	0,85	0,9393
Образец 25	2257,61	7553,31	86,91	0,89	0,9381
Образец 26	2247,69	8418,37	91,75	0,20	0,9455
Образец 27	2248,39	8337,77	91,31	0,43	0,9436
Образец 28	2248,77	7541,87	86,84	0,87	0,9384
*Итог для шкалы: среднее значение = 2337,77; стандартное отклонение = 96,469; количество экспертов = 13; значение альфа Кронбаха = 0,944; стандартизованное значение альфа = 0,928					

Образцы вин, которым соответствуют малые корреляции и значения *альфы Кронбаха* при удалении, превышающие *альфа Кронбаха* для суммарной шкалы (0,944), снижают надежность экспертизы. Из таблицы видно, что это образцы 1, 2, 3, 4, 5, 8, 26, так как *альфы Кронбаха* при удалении приняли соответственно значения 0,946; 0,948, 0,945; 0,948; 0,947; 0,946; 0,946, превышающие *альфа Кронбаха* для суммарной шкалы, равное 0,944. Корреляции, соответствующие этим образцам вин, также принимают малые значения. Указанные образцы в таблице 81 отмечены полужирным курсивом.

Чем меньше *альфа Кронбаха* в последнем столбце, тем вклад образца в надежность экспертизы или в единодушие экспертов выше. Из таблицы видно, что наибольший вклад в надежность дегустации вносят образцы – 21, 25, 17, 28, 13, 14, 7, 16, 24.

Многомерное шкалирование позволяет объекты многомерного пространства перенести в пространство меньшей размерности, в частности – пространство размерности 2, т.е. на плоскость, сохранив порядок расстояний между объектами. Объекты, которые близки в многомерном пространстве, сохраняют близость и в пространстве меньшей размерности.

Если воспользоваться матричным файлом таблицы корреляций, создание и сохранение которого предусмотрено в модуле *Надежность и позиционный анализ*, то при помощи многомерного шкалирования можно образцы вин, являющиеся объектами в пространстве размерности 13, представить в виде точек на плоскости, максимально сохранив порядок парного сходства между ними относительно экспертных оценок. Чем выше сходство между образцами вин, тем меньше будет расстояние между ними.

На графике, отображенном на рисунке 57, образцы вин представлены в виде точек на плоскости в системе координат *Измерение 1*, *Измерение 2*.

Следует обратить внимание, что образцы вин, для которых *альфы Кронбаха* при удалении имеют значения меньше *альфа Кронбаха* для суммарной шкалы, образуют единый кластер, обозначенный на графике эллипсом. Образцы вин, принадлежащие данному кластеру, вносят положительный вклад в надежность

экспертизы, увеличивая единодушие дегустаторов. Образцы вин 1, 2, 3, 4, 5, 8, 26, для которых *альфы Кронбаха* при удалении имеют значения больше *альфа Кронбаха* для суммарной шкалы, расположены на периферии диаграммы за пределами выделенного кластера. Эти образцы вносят отрицательный вклад в надежность дегустации, уменьшая согласованность дегустаторов.

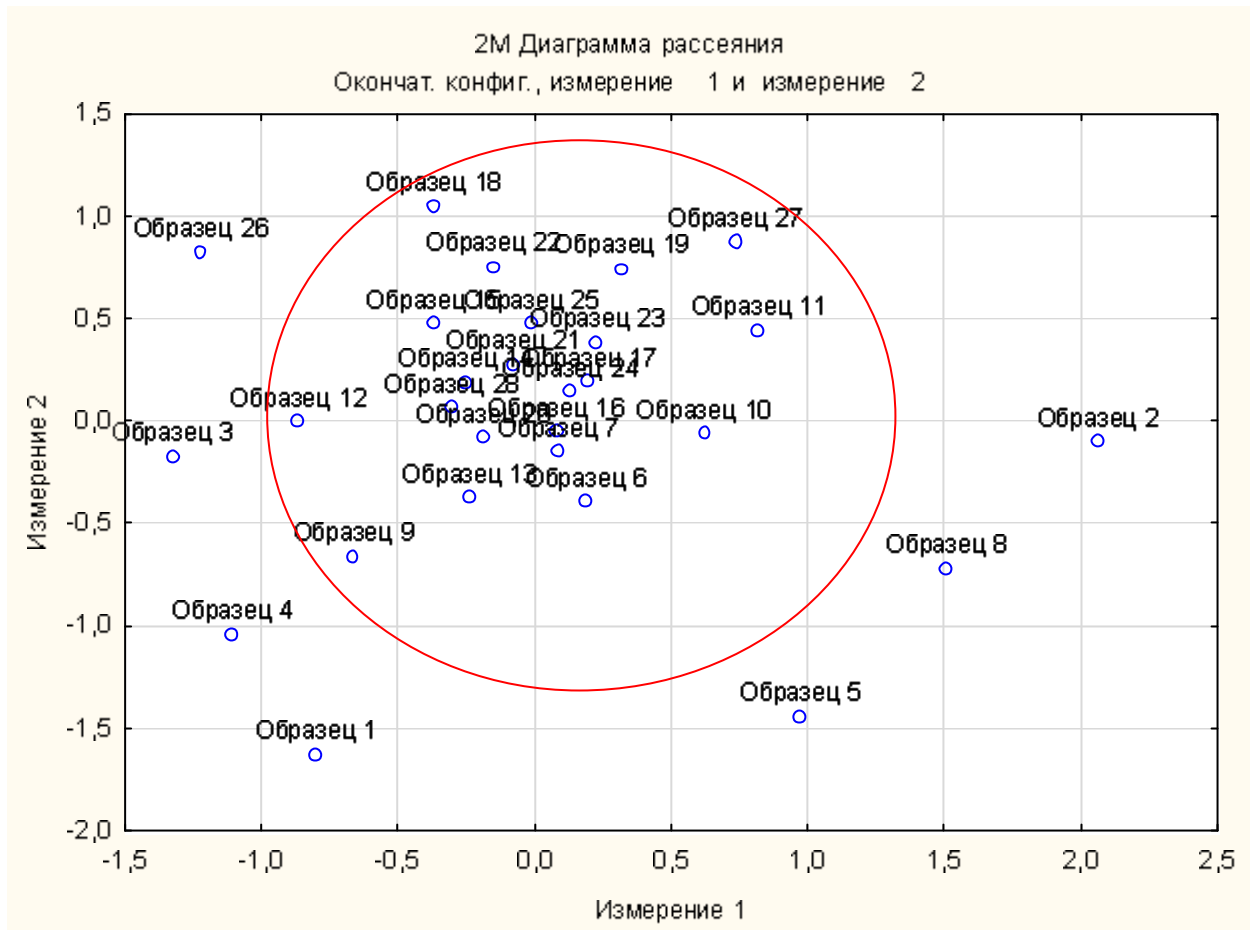


Рисунок 57 – Результаты многомерного шкалирования
испытуемых образцов вин

В модуле *Надежность и позиционный анализ* предусмотрена возможность определения необходимого числа позиций, чтобы при сохранении основных статистических показателей суммарной шкалы была достигнута требуемая надежность анкеты. Например, если выбрать уровень надежности экспертизы (*альфа Кронбаха*), равный 0,95, то для ее достижения надо добавить еще 4 образца, если требуется достижение уровня надежности 0,98, то надо добавить еще 54 образца вин.

Если оценивать надежность экспертизы по совокупности коэффициентов вариации для каждого образца вин, представленных в последнем столбце таблицы 80, то согласованность экспертов хорошая, так как *все коэффициенты вариации V_i меньше, чем 20.*

Показатель надежности экспертных оценок *альфа Кронбаха* вычисляли «вручную», не прибегая к модулю *Надежность и позиционный анализ*. Для этого использовали формулу (24), учитывая, что дисперсия суммарной шкалы, вычисленная по формуле (20), равна 96,47, $n = 28$; а дисперсии s_i^2 отображены во втором столбце таблицы 80.

$$\alpha = (n/(n-1)) * [1 - \Sigma(s_i^2)/s_{\text{сум}}^2] = (28/27) * [1 - 835,61/(96,47)^2] = 0,944 \quad (26)$$

Таким образом, рассмотрены различные способы вычисления статистики *альфа Кронбаха*, которые использованы в качестве интегрального показателя надежности дегустации для характеристики согласованности экспертов посредством оценки изменчивости органолептических свойств объектов дегустации.

Однако необходимо учитывать тот факт, что, в случаях экспертных оценок надежность экспертизы зависит не только от изменчивости оцениваемых объектов (в нашем случае образцов вин), но также и от изменчивости мнений экспертов в виду определенной их субъективности при оценке объектов экспертизы. Это означает, что на согласованность мнений экспертов влияют не только индивидуальные особенности объектов экспертизы (чем более они различны, тем менее единодушны эксперты), но и индивидуальные особенности экспертов в восприятии органолептических свойств объектов (чем более они различны, тем менее единодушны).

Модуль *Надежность и позиционный анализ* позволяет оценить надежность экспертизы посредством оценки вариабельности мнений экспертов. Для этого следует транспонировать таблицу 79, заменив строки столбцами. В терминологии позиционного анализа это означает, что строки, обозначающие вина, –

это респонденты. Столбцы, обозначающие экспертов, – это позиции (утверждения) анкеты. Тогда результаты дегустации можно представить в виде таблицы 82.

Таблица 82 – Транспонированная таблица результатов дегустации

№ образца	Эксперт 1	Эксперт 2	Эксперт 3	Эксперт 4	Эксперт 5	Эксперт 6	Эксперт 7	Эксперт 8	Эксперт 9	Эксперт 10	Эксперт 11	Эксперт 12	Эксперт 13
1	85	82	82	87	84	85	84	83	86	83	85	89	85
2	80	80	84	83	80	81	81	80	71	81	80	80	80
3	83	80	79	79	80	82	82	81	98	83	83	82	83
4	85	84	80	84	81	80	81	81	98	84	85	100	85
5	81	83	82	81	80	80	79	79	75	83	81	87	81
6	81	88	87	84	81	83	80	78	88	77	69	82	81
7	84	88	88	85	83	80	83	81	89	83	66	83	83
8	84	88	87	84	83	85	86	83	84	84	85	85	85
9	87	80	78	82	84	82	87	85	88	86	76	88	84
10	87	83	81	82	86	84	82	83	82	80	73	80	82
11	80	84	83	80	82	85	84	78	80	79	71	70	80
12	85	86	84	84	86	85	82	81	97	85	81	85	88
13	83	88	87	90	81	77	78	78	98	80	60	91	86
14	82	83	81	83	80	82	81	85	89	84	68	81	89
15	85	82	82	81	82	80	81	80	98	81	64	63	86
16	88	88	88	91	85	75	83	82	90	84	69	82	90
17	84	87	88	83	82	86	84	80	86	89	65	84	92
18	84	84	84	80	80	77	81	85	86	86	81	77	90
19	83	83	78	79	80	78	80	78	78	82	72	73	90
20	88	89	89	91	90	95	86	85	98	85	71	84	90
21	84	80	80	84	82	81	82	80	88	85	61	75	88
22	87	84	80	81	80	84	82	79	86	98	74	80	92
23	87	89	89	83	82	80	83	79	86	91	68	78	88
24	86	87	86	82	81	83	84	83	86	87	71	87	94
25	84	82	79	80	78	80	82	80	86	86	64	71	90
26	86	88	89	90	90	90	85	84	96	99	93	87	94
27	90	90	92	91	90	92	86	86	86	94	86	85	94
28	90	90	89	91	80	93	86	87	98	97	72	90	94

Перед тем как перейти к анализу надежности, исследуем описательные статистики измерений. В таблице 83 отображены средние и стандартные отклонения для всех 13 экспертов: средние значения оценок всех экспертов принимают значения из достаточно широкого диапазона от 70 до 90, что свидетельствует о высокой изменчивости мнений экспертов.

Таблица 83 – Описательные статистики оценок экспертов

Переменная	Средние значения статистик и величина стандартного отклонения	
	средние	стандартное отклонение
Эксперт 1	84,733	2,712
Эксперт 2	85,004	3,281
Эксперт 3	84,142	4,052
Эксперт 4	84,107	3,937
Эксперт 5	82,607	3,247
Эксперт 6	83,026	4,811
Эксперт 7	82,678	2,294
Эксперт 8	81,571	2,686
Эксперт 9	88,232	7,361
Эксперт 10	85,571	5,613
Эксперт 11	74,068	8,614
Эксперт 12	82,111	7,389
Эксперт 13	87,232	4,560

Наибольший средний балл у эксперта 9 ($\bar{x} = 88,23$), наименьший – у эксперта 11 ($\bar{x} = 74,07$). Размах R составляет $88,23 - 74,07 = 14,6 \approx 15$. При этом экспертам 9, 11, 12 соответствуют наибольшие разбросы, стандартные отклонения равны соответственно 7,36; 8,61; 7,39. Эти результаты уже говорят о некоторой несогласованности мнений экспертов, причем эта несогласованность вызвана, в первую очередь, экспертами 9 и 11. В какой степени выражена эта несогласованность и как она влияет на надежность дегустации, покажет дальнейший, более углубленный позиционный анализ.

На рисунке 58 приведены графики *диаграмм размаха* дегустационных оценок для каждого эксперта. По диаграммам размаха можно для каждого эксперта визуально оценить степень симметричности распределений дегустационных баллов, медиану, квартильный размах, размах. Из графика видно, что распределение баллов преимущественно не симметрично, исключением являются эксперты 3 и 12.

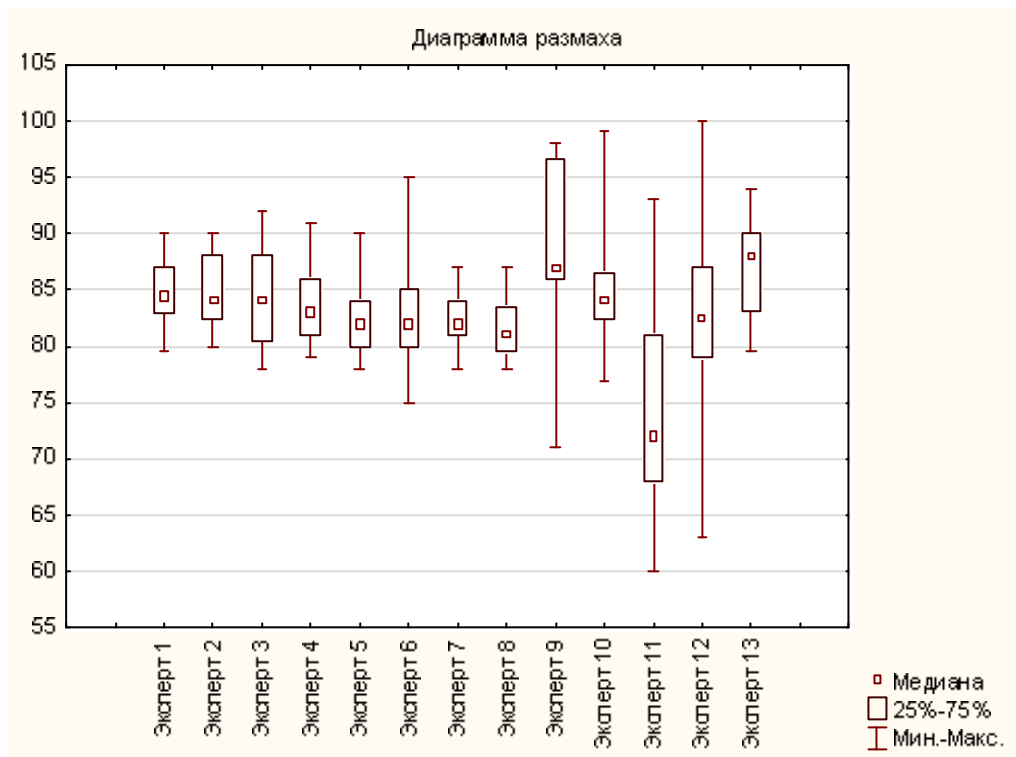


Рисунок 58 – Диаграммы размаха дегустационных оценок
для каждого эксперта

Наибольшая медиана у дегустатора 9, что свидетельствует о его наиболее лояльном отношении к качеству образцов вин. Наименьшая медиана у дегустатора 11, что говорит о его наиболее критичном отношении к качеству образцов вин. При этом следует обратить внимание на то, что относительно небольшие разбросы в оценке качества вин у экспертов 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 13 и достаточно большие – у экспертов 6, 9, 10, 11, 12.

Итоги позиционного анализа представлены в таблице 84. Среднее значение суммарной шкалы равно 1085,09, стандартное отклонение равно 37,58. В информационной части таблицы приведены две оценки надежности суммарной шкалы *альфа Кронбаха* для балльной (0,829) и стандартизованной (0,88) шкалы. Оба значения *альфы Кронбаха* принимают относительно близкие к 1 значения, что говорит о некоторой надежности экспертных оценок. Но следует обратить внимание, что *альфа Кронбаха* (0,829), вычисленное посредством анализа изменчивости мнений каждого дегустатора при оценке всех образцов вин, значительно меньше, ранее вычисленного *альфы Кронбаха* (0,944) посредством

анализа изменчивости мнений всех дегустаторов при оценке каждого образца вина. Это означает, что согласованность дегустаторов посредством оценки их индивидуальных отличий в восприятии органолептических свойств вина меньше, чем их согласованность посредством оценки индивидуальных свойств образцов вин.

Таблица 84 – Итоги позиционного анализа оценок для каждого эксперта*

Переменная	Среднее при удалении	Дисперс. при удалении	Ст.откл. при удалении	Общ-поз. коррел.	Альфа при удалении
Эксперт 1	1000,355	1225,866	35,012	0,691	0,812
Эксперт 2	1000,083	1219,026	34,914	0,589	0,814
Эксперт 3	1000,945	1195,102	34,570	0,548	0,813
Эксперт 4	1000,981	1161,444	34,079	0,704	0,804
Эксперт 5	1002,481	1215,548	34,864	0,612	0,813
Эксперт 6	1002,061	1136,810	33,716	0,636	0,805
Эксперт 7	1002,409	1260,615	35,505	0,601	0,818
Эксперт 8	1003,516	1234,307	35,132	0,651	0,814
Эксперт 9	996,855	1137,749	33,730	0,352	0,834
Эксперт 10	999,516	1110,985	33,331	0,600	0,806
Эксперт 11	1011,019	1130,473	33,622	0,281	0,851
Эксперт 12	1002,976	1088,342	32,990	0,461	0,823
Эксперт 13	997,856	1185,146	34,425	0,508	0,815
*Итог для шкалы: среднее = 1085,09; стандартное отклонение = 37,58; число испытуемых образцов = 28; значения альфа Кронбаха = 0,829042; стандартизованное значение альфа = 0,888280, средняя межпозиционная корреляция – 0,398979					

Для того, чтобы выявить экспертов, снижающих единодушие дегустации, обратимся к последнему столбцу, в котором приведены значения *альфы Кронбаха* при удалении данного эксперта. Из таблицы видно, что эксперты 11 и 9 снижают согласованность дегустации, так как *альфы Кронбаха* при удалении имеют соответственно значения 0,851 и 0,834, превышающие *альфа Кронбаха* для суммарной шкалы, равное 0,829. Корреляции также принимают малые значения – 0,281 и 0,352.

Чем меньше *альфа Кронбаха* в последнем столбце, тем вклад эксперта в согласованность экспертизы выше. Поэтому справедливым будет утверждение, что наиболее единодушными являются эксперты 4, 6, 10, 1, 5, 3, 2, 8, 13, 7 (номера экспертов указаны в порядке убывания их вклада в надежность).

На рисунке 59 эксперты представлены в виде точек на плоскости в системе координат *Измерение 1*, *Измерение 2*. Из графика видно, что эксперты 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13 образуют кластер сходства при оценке качества вин (расположены внутри эллипса). Эксперты 9, 11, 12 образуют самостоятельные кластеры, состоящие из одного элемента. Таким образом, наибольшие отличия в оценке образцов вин у экспертов 9, 11, 12.

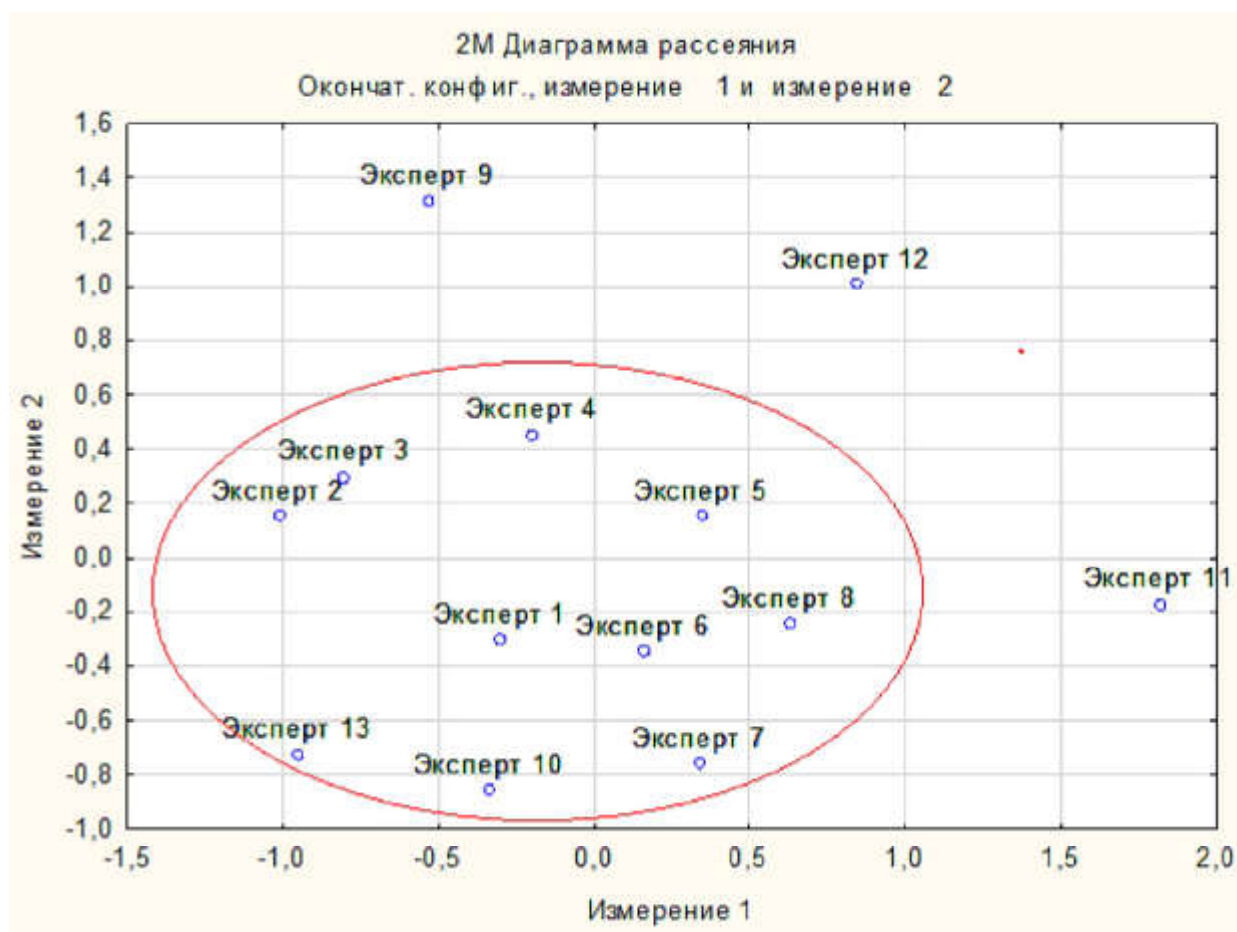


Рисунок 59 – Результаты многомерного шкалирования экспертов

Проведенное исследование выявило дегустаторов, мнения которых оказались недостаточно согласованными с мнениями большинства экспертного сообщества. Это не означает, что данные дегустаторы более (менее) квалифицированные эксперты, а означает лишь то, что их мнение отличается от мнения большинства.

Таким образом, на примере дегустации вин показано, что метод многомерного анализа данных – *надежность и позиционный анализ* может быть использован для оценки согласованности экспертных оценок посредством вычисления статистики *альфа Кронбаха*, как интегрального числового критерия надежности экспертизы. Оценка единодушия экспертов важная проблема, так как экспертная оценка является достаточно субъективным процессом, зависящим не только от индивидуальных особенностей объектов экспертизы, но и от физического и психоэмоционального состояния экспертов, подверженных влиянию большого количества случайных, неуправляемых факторов. Предлагаемый метод позволяет выявить не только объекты экспертизы, по которым в наибольшей степени расходятся мнения экспертов, но и экспертов, мнения которых не согласуются с мнением большинства.

2.7.6 Итоговая оценка экспертизы

при помощи метрики многомерного пространства

Альтернативный метод предложен к интегральной оценке результатов экспертных оценок в виде итоговой суммы баллов. Метод основан на представлении объектов экспертизы в виде точек многомерного пространства в системе координат с осями, соответствующими оценкам экспертов. При этом размерность пространства – число осей – равно количеству экспертов. Критерием итоговой оценки объектов с последующей возможностью их ранжирования

по степени предпочтения использованы расстояния до объекта с наилучшими оценками. Чем меньше расстояние, тем более предпочтителен объект.

Рассмотрим основные, существующие подходы к ранжированию объектов. Пусть заданы m объектов O_1, O_2, \dots, O_m и совокупность n количественных показателей Q_1, Q_2, \dots, Q_n , определяющих их качественные характеристики, которые назовем критериями. Значение j -го критерия, соответствующее i -му объекту, обозначим как q_{ij} , $i = \overline{1, m}; j = \overline{1, n}$. Критерии Q_j обладают тем свойством, что если объект O_k предпочтительнее объекта O_l ($O_k \succ O_l$), то $q_{kj} >$ (или $<$) q_{lj} , где \succ знак предпочтения. Знак $>$ используем в том случае, если предпочтению соответствует большее значение критерия, знак $<$, если предпочтению соответствует меньшее значение критерия. Ранжируют объекты по степени предпочтения относительно всех критериев $Q_j, j = \overline{1, n}$, что эквивалентно составлению их рейтинга [321].

Степень сложности решения данной задачи зависит от характера и количества как объектов O_i , так и от характера и количества критериев Q_j . На практике редки случаи, в которых объекты O_i оцениваются одним критерием, что даст возможность их ранжирования простым сравнением (упорядочиванием) значений критерия. Наиболее вероятен случай, когда критериев несколько, и объекты будут несравнимыми, образуя так называемое множество Парето, когда один объект лучше других по одному критерию, но хуже по другим.

Наиболее известные подходы к решению этой «многокритериальной» задачи – сведение к «однокритериальной» задаче; выбор из всех критериев Q_1, Q_2, \dots, Q_n основного критерия $Q_{осн}$ с дальнейшим использованием как интегрального критерия Q_s ; перевод критериев Q_i в балльную шкалу с последующим суммированием (вычитанием) баллов, предпочтительнее будет тот объект, которому соответствует наибольшее количество баллов. Каждый из указанных подходов обладает определенными недостатками.

Как правило, итогом измерений объектов экспертом или группой экспертов является интегральный показатель – критерий, представляющий собою итоговую сумму баллов, или среднее, равное частному от деления суммы на число признаков объекта. Интегральный показатель вычисляется для последующего распределения мест (ранжирования) объектов в соответствии с результатами измерений. При этом проблема ранжирования объектов сохраняет свою актуальность и неопределенность в интерпретации итоговых результатов измерений в балльной шкале. Рассмотрим, насколько оправданным является суммирование баллов. Здесь мы видим несколько аспектов этой проблемы:

- в соответствии с аксиомами теории измерений операция суммирования, как впрочем и другие арифметические операции в балльной шкале, не определена;

- при суммировании баллов, оценивающих объекты, нивелируются их признаки, теряется их специфичность, значимость в их описании, все признаки объекта становятся тождественными относительно их роли в его представлении;

- одна и та же сумма, т.е. значение интегрального показателя, может соответствовать различным значениям признаков – слагаемых этой суммы.

Предложен метод, который лишен перечисленных выше недостатков при сравнении объектов и не требует вычисления интегрального критерия. Очевидно, что любые n объектов, оцененных m экспертами в балльной шкале можно представить как точки пространства размерности m с координатами, соответствующими экспертам.

Сходство между ними можно определить через расстояние между точками в пространстве. При этом, чем больше расстояние, тем меньше сходство и наоборот – чем меньше расстояние, тем больше сходство. В программе STATISTICA в модуле *Кластерный анализ* для определения расстояний предложены различные метрики, использование которых зависит от свойств шкал измерения свойств объектов, но наиболее распространенной является евклидова метрика:

$$d_e(X_i, X_j) = (\sum_k (x_{ik} - x_{jk})^2)^{1/2}, \quad (27)$$

где X_i, X_j – сравниваемые объекты экспертизы ($i, j = 1, \dots, n$), x_{ik}, x_{jk} – их координаты, или баллы, проставленные k -м экспертом ($k = 1, \dots, m$).

Как пример, рассмотрим ранжирование образцов вин по результатам их дегустации, таблица 82, раздела 2.7.5. Объекты ранжирования – образцы вин, признаки, характеризующими их свойства (качество) – баллы дегустаторов.

Для возможности использования многомерного статистического анализа к ранжированию вин по убыванию степени их качества введем в рассмотрение виртуальный образец – идеальный образец вина (ИО). ИО будем считать вино с максимальными баллами, выставленными каждым дегустатором. В таблице они соответствуют максимальным значениям столбцов и записаны в последней строке. Таким образом, 28 образцов вин и ИО можем представить как точки в пространстве размерности 13 – по количеству дегустаторов. Тогда сходство между образцами вин легко оценить через расстояния между ними по правилу – чем меньше расстояние, тем больше сходство между винами, и наоборот, чем больше расстояние, тем более отличны вина.

В квадратной симметричной таблице 85 размерности (29×29) указаны расстояния между образцами, вычисленные программой STATISTICA в евклидовой метрике. В последних строке и столбце приведены расстояния между каждым из 28 образцов вин и ИО. По этим расстояниям легко определить ранги (места) образцов вин, соответствующие их качествам.

Таблица 85 – Таблица расстояний вычисленных в евклидовой метрике

	Евклидово расстояние (1–15)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,0	21,4	17,7	18,2	17,1	22,4	22,8	9,8	12,9	17,3	27,2	14,4	31,5	21,1	36,7
2	21,4	0,0	28,4	35,3	9,7	22,7	25,6	20,0	24,0	17,3	18,0	30,0	38,1	24,6	36,8
3	17,7	28,4	0,0	19,6	24,6	22,5	23,8	20,1	16,7	21,3	26,6	13,3	30,5	19,8	27,7
4	18,2	35,3	19,6	0,0	27,7	29,1	28,7	23,3	20,6	29,7	39,5	18,0	29,2	27,9	42,9
5	17,1	9,7	24,6	27,7	0,0	21,1	23,6	16,9	19,9	16,9	22,1	25,6	34,2	22,7	38,1
6	22,4	22,7	22,5	29,1	21,1	0,0	9,6	20,6	21,6	14,9	16,9	20,4	19,4	15,2	25,1
7	22,8	25,6	23,8	28,7	23,6	9,6	0,0	20,9	18,8	15,5	20,4	19,5	16,5	12,6	24,4
8	9,8	20,0	20,1	23,3	16,9	20,6	20,9	0,0	16,9	17,3	24,1	15,4	32,7	21,4	35,5
9	12,9	24,0	16,7	20,6	19,9	21,6	18,8	16,9	0,0	14,3	25,4	16,3	28,2	15,5	31,5
10	17,3	17,3	21,3	29,7	16,9	14,9	15,5	17,3	14,3	0,0	14,7	20,1	28,6	14,5	26,3

	Евклидово расстояние (1–15)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
11	27,2	18,0	26,6	39,5	22,1	16,9	20,4	24,1	25,4	14,7	0,0	28,1	34,1	20,1	23,0
12	14,4	30,0	13,3	18,0	25,6	20,4	19,5	15,4	16,3	20,1	28,1	0,0	26,0	18,5	29,4
13	31,5	38,1	30,5	29,2	34,2	19,4	16,5	32,7	28,2	28,6	34,1	26,0	0,0	21,6	31,1
14	21,1	24,6	19,8	27,9	22,7	15,2	12,6	21,4	15,5	14,5	20,1	18,5	21,6	0,0	22,1
15	36,7	36,8	27,7	42,9	38,1	25,1	24,4	35,5	31,5	26,3	23,0	29,4	31,1	22,1	0,0
16	23,4	29,5	26,5	29,2	27,6	18,4	12,0	22,5	21,2	20,1	26,9	19,7	18,6	16,3	26,4
17	24,5	28,2	27,6	31,6	26,0	18,2	13,1	22,3	20,7	19,6	24,0	21,2	22,6	13,6	28,2
18	18,6	21,0	17,8	27,9	19,4	21,7	20,6	16,0	18,1	17,4	21,8	18,1	31,9	15,7	26,8
19	26,6	18,6	26,3	37,1	19,9	21,4	22,4	25,1	23,6	16,4	15,1	27,8	33,5	17,3	24,9
20	25,7	39,0	29,2	31,4	37,0	25,8	22,6	25,3	25,8	26,5	33,5	18,6	27,6	24,4	32,7
21	29,0	28,2	26,4	36,5	28,5	19,0	15,9	29,3	22,0	18,0	19,2	25,8	23,9	11,6	17,1
22	23,7	28,1	24,1	30,7	25,1	26,7	22,9	22,8	19,5	22,3	26,8	21,3	32,4	18,0	29,9
23	25,4	26,5	26,5	33,1	25,1	18,1	12,1	21,6	21,7	18,8	21,5	21,4	24,7	15,5	24,5
24	19,4	26,5	24,0	25,9	22,7	19,3	14,9	17,8	16,4	18,3	25,9	17,7	23,8	12,7	30,7
25	30,5	27,3	26,4	38,6	28,1	21,5	19,6	29,3	24,1	19,6	17,9	27,5	29,2	13,5	16,6
26	25,7	41,8	31,3	29,7	38,1	39,7	36,9	25,3	31,3	37,0	44,0	22,5	43,4	36,0	46,6
27	22,8	35,5	33,3	32,9	33,3	34,4	31,2	20,2	28,3	30,2	37,8	22,9	40,4	31,6	43,6
28	29,1	43,0	32,7	30,7	39,3	33,1	28,0	28,7	28,2	33,8	41,1	23,5	31,0	27,6	40,0
ИО	32,1	50,3	39,9	31,7	45,3	46,6	43,5	32,7	37,4	44,7	53,8	30,5	47,3	43,9	57,1

Продолжение таблицы 85

	Евклидово расстояние (16–28)													
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
1	23,4	24,5	18,6	26,6	25,7	29,0	23,7	25,4	19,4	30,5	25,7	22,8	29,1	
2	29,5	28,2	21,0	18,6	39,0	28,2	28,1	26,5	26,5	27,3	41,8	35,5	43,0	
3	26,5	27,6	17,8	26,3	29,2	26,4	24,1	26,5	24,0	26,4	31,3	33,3	32,7	
4	29,2	31,6	27,9	37,1	31,4	36,5	30,7	33,1	25,9	38,6	29,7	32,9	30,7	
5	27,6	26,0	19,4	19,9	37,0	28,5	25,1	25,1	22,7	28,1	38,1	33,3	39,3	
6	18,4	18,2	21,7	21,4	25,8	19,0	26,7	18,1	19,3	21,5	39,7	34,4	33,1	
7	12,0	13,1	20,6	22,4	22,6	15,9	22,9	12,1	14,9	19,6	36,9	31,2	28,0	
8	22,5	22,3	16,0	25,1	25,3	29,3	22,8	21,6	17,8	29,3	25,3	20,2	28,7	
9	21,2	20,7	18,1	23,6	25,8	22,0	19,5	21,7	16,4	24,1	31,3	28,3	28,2	
10	20,1	19,6	17,4	16,4	26,5	18,0	22,3	18,8	18,3	19,6	37,0	30,2	33,8	
11	26,9	24,0	21,8	15,1	33,5	19,2	26,8	21,5	25,9	17,9	44,0	37,8	41,1	
12	19,7	21,2	18,1	27,8	18,6	25,8	21,3	21,4	17,7	27,5	22,5	22,9	23,5	
13	18,6	22,6	31,9	33,5	27,6	23,9	32,4	24,7	23,8	29,2	43,4	40,4	31,0	
14	16,3	13,6	15,7	17,3	24,4	11,6	18,0	15,5	12,7	13,5	36,0	31,6	27,6	
15	26,4	28,2	26,8	24,9	32,7	17,1	29,9	24,5	30,7	16,6	46,6	43,6	40,0	
16	0,0	16,8	20,0	24,3	22,8	19,1	23,3	14,0	15,6	22,3	33,8	28,2	26,7	
17	16,8	0,0	21,7	22,5	21,4	16,6	16,6	10,8	9,0	18,8	33,9	27,1	22,6	
18	20,0	21,7	0,0	16,3	30,5	22,5	17,8	17,9	17,0	19,8	31,0	27,9	32,2	
19	24,3	22,5	16,3	0,0	36,5	17,3	21,0	19,9	21,6	13,0	43,0	37,4	40,4	
20	22,8	21,4	30,5	36,5	0,0	28,5	28,7	25,1	22,4	32,5	27,2	22,2	17,6	
21	19,1	16,6	22,5	17,3	28,5	0,0	20,8	16,5	20,0	8,5	42,6	37,6	33,2	
22	23,3	16,6	17,8	21,0	28,7	20,8	0,0	15,4	15,9	19,1	29,4	26,6	25,3	
23	14,0	10,8	17,9	19,9	25,1	16,5	15,4	0,0	13,6	16,7	33,9	27,7	26,4	
24	15,6	9,0	17,0	21,6	22,4	20,0	15,9	13,6	0,0	20,9	30,6	24,4	22,1	
25	22,3	18,8	19,8	13,0	32,5	8,5	19,1	16,7	20,9	0,0	43,5	38,6	35,6	

	Евклидово расстояние (16–28)												
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
26	33,8	33,9	31,0	43,0	27,2	42,6	29,4	33,9	30,6	43,5	0,0	14,7	24,5
27	28,2	27,1	27,9	37,4	22,2	37,6	26,6	27,7	24,4	38,6	14,7	0,0	22,0
28	26,7	22,6	32,2	40,4	17,6	33,2	25,3	26,4	22,1	35,6	24,5	22,0	0,0
ИО	41,2	40,2	41,5	53,2	31,2	51,4	38,8	42,5	36,5	53,3	15,5	21,3	25,7

Естественно, по такой таблице затруднительно судить о сходстве между образцами вин и их близости к ИО. Многомерное шкалирование позволяет объекты многомерного пространства перенести в пространство меньшей размерности, в частности – пространство размерности 2, т.е. на плоскость, сохранив порядок расстояний между объектами. Объекты, которые близки в многомерном пространстве, сохраняют близость и в пространстве меньшей размерности. Если воспользоваться матричным файлом таблицы расстояний, создание и сохранение которого предусмотрено в модуле *Кластерный анализ*, то при помощи многомерного шкалирования можно образцы вин, являющиеся объектами в пространстве размерности 13, представить в виде точек на плоскости, максимально сохранив порядок парного сходства между ними относительно баллов дегустации. Чем меньше расстояние между образцами вин, тем выше будет сходство между ними. Чем ближе точка, соответствующая образцу вина расположена к точке ИО, соответствующей идеальному образцу, тем выше качество этого вина. На графике рисунка 60 образцы вин представлены в виде точек на плоскости в системе координат *Измерение 1*, *Измерение 2*. Из графика видно, что наиболее близким к ИО является образец 26, следовательно, ему соответствует наивысшее качество, далее идут образцы 27, 28 и т.д. Наиболее удаленным к ИО является образец 15 – следовательно, это вино наихудшего качества из 28 рассмотренных образцов.

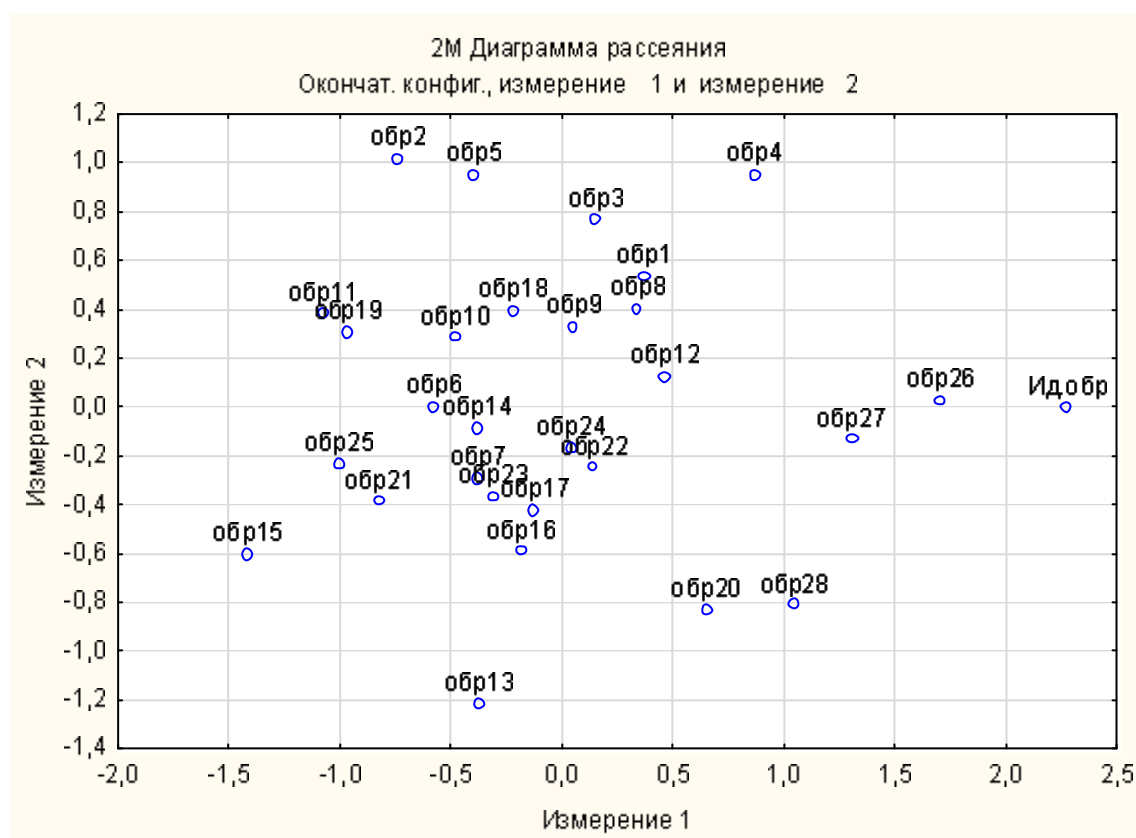


Рисунок 60 – Результаты многомерного шкалирования образцов вин

Наиболее точное ранжирование вин можно осуществить по последнему столбцу (ИО) таблицы 85. Минимальный ранг 1 (первое место) присвоим образцу с наибольшим сходством с ИО, т.е. образцу, у которого минимальное расстояние до ИО. Легко видеть, что это образец № 26, расстояние равно 15,5. Ранг 2 (второе место) присвоим образцу № 27, расстояние равно 21,3 и т.д., наибольший ранг соответствующий последнему месту – 28 присвоим вину №15 с максимальным расстоянием равным 55,1. Процедура ранжирования осуществляется программой STATISTICA автоматически при помощи одноименной опции. Для сравнения различных способов ранжирования в таблице 86 представлены результаты ранжирования по итогам интегрального показателя, представленных в столбце *Среднее* и по итогам кластерного анализа – в столбце *Расстояние*. Соответствующие им ранги отображены в столбцах *Ранг ср.* и *Ранг рас.*

Таблица 86 – Итоговые результаты ранжирования образцов вин

№ образца	Ранжирование					Соответствие
	Среднее	Ранг ср.	Расстояние	Ранг рас.	Разность	
1	85	8	32,1	7	-1	недооценено
2	80	26	50,3	23	-3	недооценено
3	83	18	39,9	12	-6	недооценено
4	85	6	31,7	6	0	совпадение
5	81	22	45,3	20	-2	недооценено
6	81	21	46,6	21	0	совпадение
7	83	16	43,5	17	1	переоценено
8	85	7	32,7	8	1	переоценено
9	84	13	37,4	10	-2,5	недооценено
10	82	20	44,7	19	-1	недооценено
11	80	27	53,8	27	0	совпадение
12	85	5	30,5	4	-1	недооценено
13	83	15	47,3	22	7	переоценено
14	82	19	43,9	18	-1	недооценено
15	80	24	57,1	28	4	переоценено
16	84	10	41,2	14	4	переоценено
17	84	11	40,2	13	2	переоценено
18	83	17	41,5	15	-2	недооценено
19	80	28	53,2	25	-3	недооценено
20	88	4	31,2	5	1	переоценено
21	81	23	51,4	24	1	переоценено
22	84	13	38,8	11	-1,5	недооценено
23	83	14	42,5	16	2	переоценено
24	84	9	36,5	9	0	совпадение
25	80	25	53,3	26	1	переоценено
26	90	1	15,5	1	0	совпадение
27	89	2	21,3	2	0	совпадение
28	89	3	25,7	3	0	совпадение

Сравнение рангов *Ранг ср.* и *Ранг рас.* для одинаковых образцов вин, показывает, что они достаточно сильно коррелированы. Большим (малым) значениям рангов в столбце *Ранг ср.* соответствуют большие (малые) величины рангов в столбце *Ранг рас.* Из диаграммы рассеяния, представленной на рисунке б1, видно, что точки, представляющие образцы вин с координатами (*Ранг рас.*, *Ранг ср.*), достаточно близко расположены к линии регрессии,

коэффициент корреляции равен 0,95. Данные результаты свидетельствуют о непротиворечивости обоих способов ранжирования.

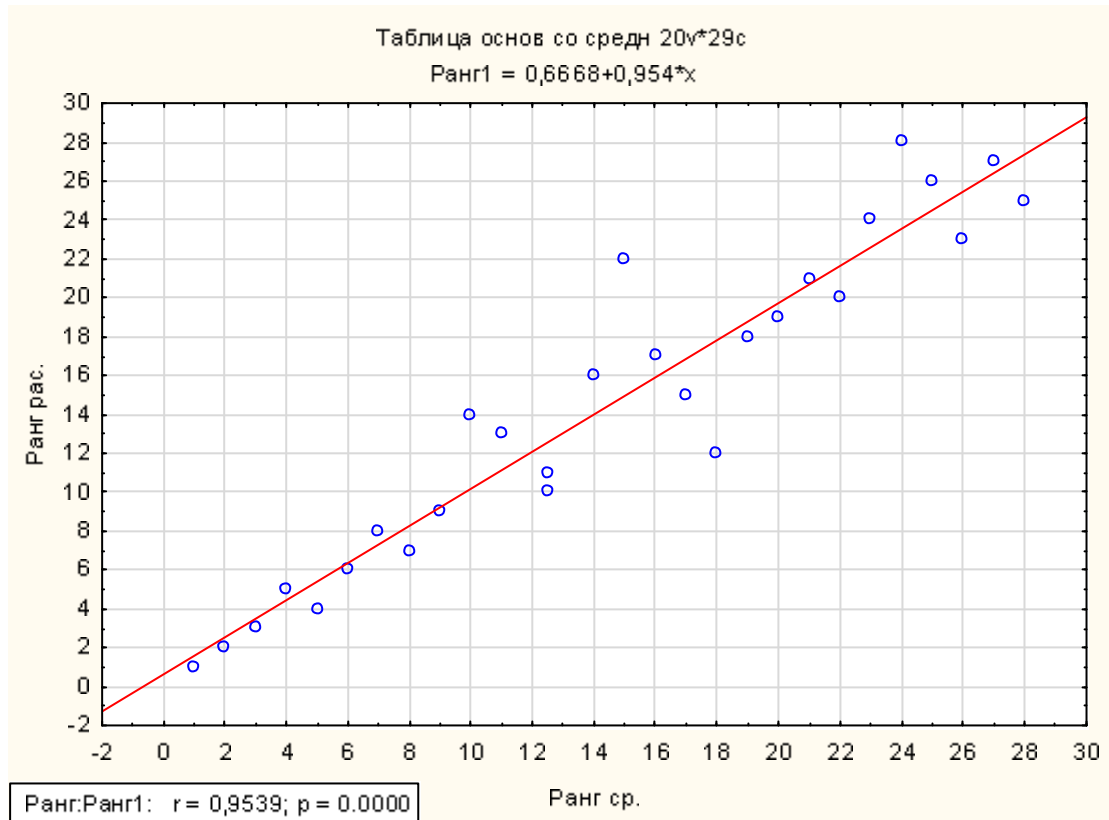


Рисунок 61 – Диаграмма рассеяния для *Ранг ср.* и *Ранг рас.*

Однако, представленные результаты также свидетельствуют о том, что, несмотря на сильную корреляционную взаимосвязь двух способов ранжирования, между ними существуют определенные несоответствия, которые могут повлиять на итоговые результаты экспертной оценки, в данном случае при распределении мест (рангов) образцов вин в соответствии с их качеством, оцененным дегустаторами в балльной шкале.

Таким образом, рассмотрен новый альтернативный способ обработки результатов экспертных оценок в балльной шкале, основанной на использовании метрик многомерных пространств. Предложенный метод предполагает вычисление расстояний между объектами экспертизы, как точками многомерного пространства. Размерность пространства равна количеству признаков (экспертов), использованных для оценки объектов. Метод по сравнению с традиционным суммированием баллов является на наш взгляд более точным и математически

обоснованным, так как простое суммирование баллов представляет сумму координат точек, что не соответствует известным метрикам существующих многомерных пространств. Пакетный режим обработки данных позволяет методами многомерного анализа произвести необходимые расчеты за короткий интервал времени.

2.7.7 Использование модели логит регрессии для идентификации фальсификатов вин

В предыдущих разделах рассмотрена возможность прогнозирования качества виноградных вин методами математической статистики при известных концентрациях определенного набора летучих и нелетучих веществ. В п.2.6 были представлены регрессионные модели, описывающие характер стохастической взаимосвязи между содержанием аминокислот (пролина, треонина, аргинина) и дегустационной оценкой. В п.2.7.2 рассмотрены взаимосвязи между дегустационной оценкой и содержаниями в винах летучих веществ, построено адекватное уравнение регрессии, при помощи которого показана возможность предсказания дегустационной оценки для вин высокого, среднего и низкого качества при известных концентрациях таких веществ, как альдегид, этилацетат, метанол, высшие спирты, уксусная кислота, фурфурол. В п. 2.7.3 рассмотрена номинальная шкала классификации вин по категориям качества *высокое, среднее, низкое, фальсификат*. Показано, что классификации вин в номинальной шкале дискриминантным анализом по концентрациям указанных выше летучих веществ, обуславливающих их органолептические свойства, не уступает их экспертной (дегустационной) оценке. В п. 2.7.4 рассмотрена возможность применения дискриминантного анализа и метода общие линейные модели (ОЛМ) для первоначальной оценки качества вин в номинальной шкале – *высокое, среднее, низкое и фальсификат* по содержанию в них летучих веществ, с последующим

прогнозом в балльной шкале дегустационной оценки. Построена математическая модель классификации вин по указанным категориям, разработан программный модуль для автоматизации вычислений.

Фальсифицированные вина обычно представляют собой искусственную смесь этилового спирта, сахарозы, лимонной, реже винной кислоты, различных экстрактов синтетического и растительного происхождения, частично натурального вина, прочих ингредиентов и полностью соответствуют требованиям действующих государственных стандартов по физико-химическим показателям и критериям безопасности. Путем построения вероятностно-статистической модели классификации вин в среде пакета STATISTICA 10 при помощи модуля «Логит регрессии» показана возможность использования модели логит регрессии для идентификации фальсификатов вин [326].

Для анализа были взяты те же 330 образцов вин (300 натуральных вин и 30 фальсификатов), которые были использованы для построения общей линейной модели в п. 2.7.4. Исследование эмпирических законов распределения концентрации летучих веществ в образцах натуральных вин и фальсификатов показал их несоответствие нормальному закону, поэтому для описания статистических характеристик выборки наряду со средним арифметическим значением (*среднее*) и стандартным отклонением (*станд. отклон.*) были рассмотрены их непараметрические аналоги – *медиана, нижняя и верхняя квартиль*.

Рассчитанные по содержаниям летучих компонентов в натуральных винах и фальсификатах значения основных описательных статистик отображены в таблицах 87 и 88. Как видно, статистические характеристики содержаний компонентов существенно отличаются у натуральных вин и фальсификатов. Значительное отличие медиан и средних у натуральных вин свидетельствует о наличии достаточно сильной асимметричности эмпирических распределений.

Таблица 87 – Описательные статистики содержания летучих веществ
в натуральных винах

Переменная	Описательные статистики						
	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Станд. отклон.
C_A	75,513	44,000	21,000	230,000	35,000	126,000	58,577
C_E	71,260	58,000	44,000	175,000	54,000	68,500	31,264
C_M	84,740	86,500	40,000	165,000	54,000	120,000	33,645
C_{HA}	318,363	258,000	200,000	750,000	241,000	340,500	122,838
C_{AA}	498,393	408,000	240,000	900,000	350,000	598,000	172,465
C_F	30,780	20,000	2,000	97,000	6,000	56,000	26,871

Таблица 88 – Описательные статистики содержания летучих веществ
в фальсификатах

Переменная	Описательные статистики						
	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Станд. отклон.
C_A	6,533	6,000	1,000	12,000	4,000	9,000	3,104
C_E	15,533	14,000	5,000	27,000	11,000	22,000	6,709
C_M	18,700	11,000	3,000	82,000	8,000	22,000	18,430
C_{HA}	42,000	39,000	9,000	90,000	22,000	62,000	22,230
C_{AA}	91,633	90,000	5,000	210,000	65,000	112,000	48,331
C_F	2,600	2,000	0,000	8,000	1,000	4,000	2,343

Для визуального представления степени отличия медиан, нижних и верхних квартилей, а также минимальных и максимальных значений содержаний компонентов у натуральных вин и фальсификатов, в качестве примера на рисунках 62, 63 представлены диаграммы размаха концентраций ацетальдегида и этилацетата. Из диаграмм видно, что медианы концентраций летучих веществ натуральных вин расположены значительно выше, чем медианы концентраций летучих веществ фальсификатов. Разбросы в значениях концентраций для натуральных вин существенно выше, чем разбросы в значениях концентраций для фальсификатов.

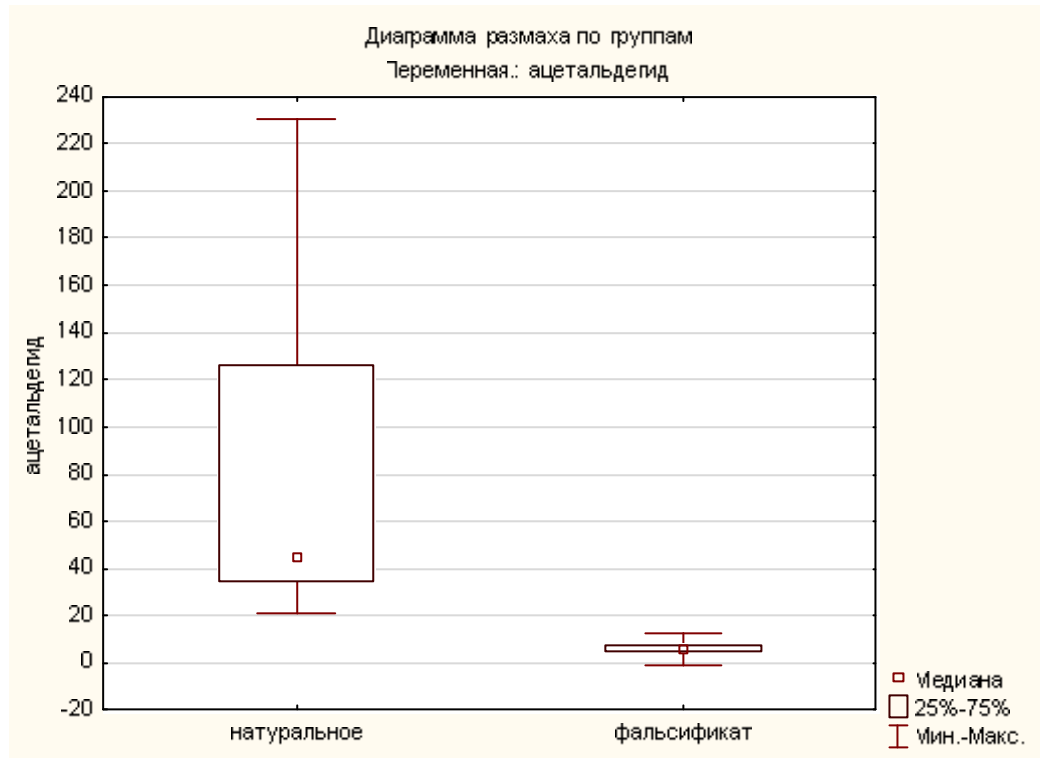


Рисунок 62 – Диаграмма размаха содержаний ацетальдегида в натуральных винах и фальсификатах, мг/дм³

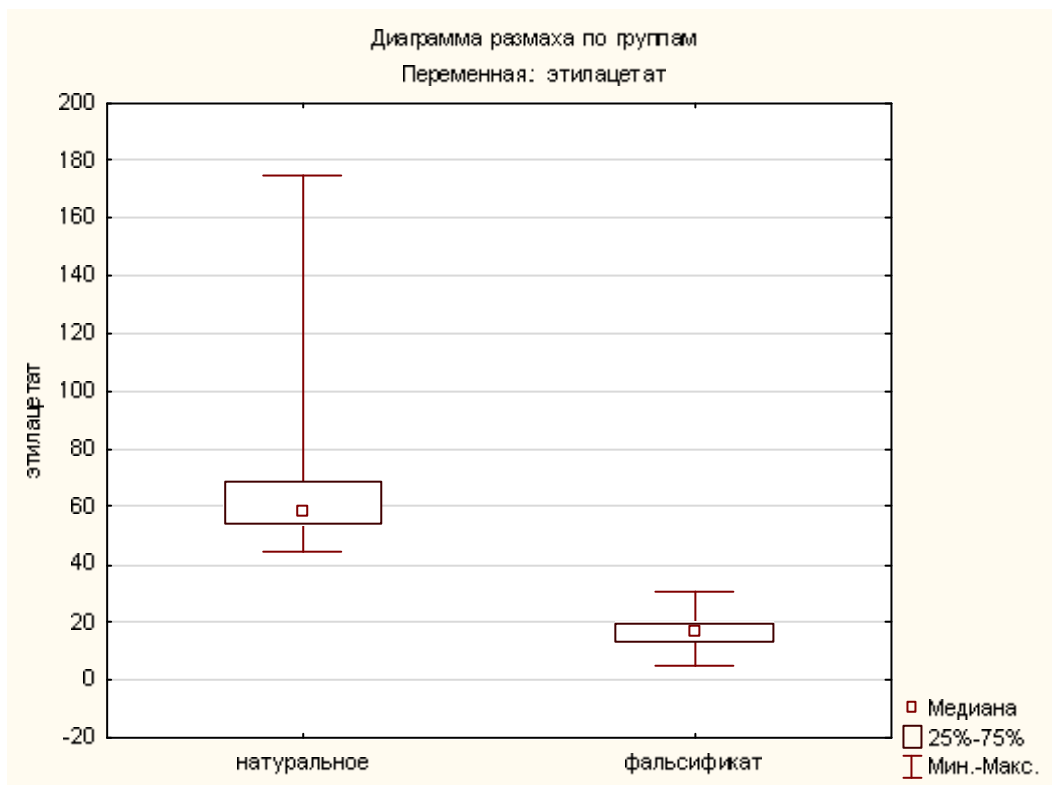


Рисунок 63 – Диаграмма размаха содержаний этилацетата в натуральных винах и фальсификатах, мг/дм³

Столь значительные отличия (во много крат) средних и медиан концентраций летучих веществ натуральных вин и фальсификатов не требуют дополнительных исследований по оценке их статистической значимости. Так, например, у ацетальдегида и этилацетата средние и медианы натуральных вин и фальсификатов отличаются более чем в 4 раза, а у фурфурола – более чем в 10 раз. Диаграмма рассеяния канонических корней на рисунке 64, построенная модулем *Дискриминантный анализ* программы *STATISTICA*, показывает, что между натуральными винами и фальсификатами существуют межгрупповые отличия не только по содержанию каждого вещества, но и по их совокупности.

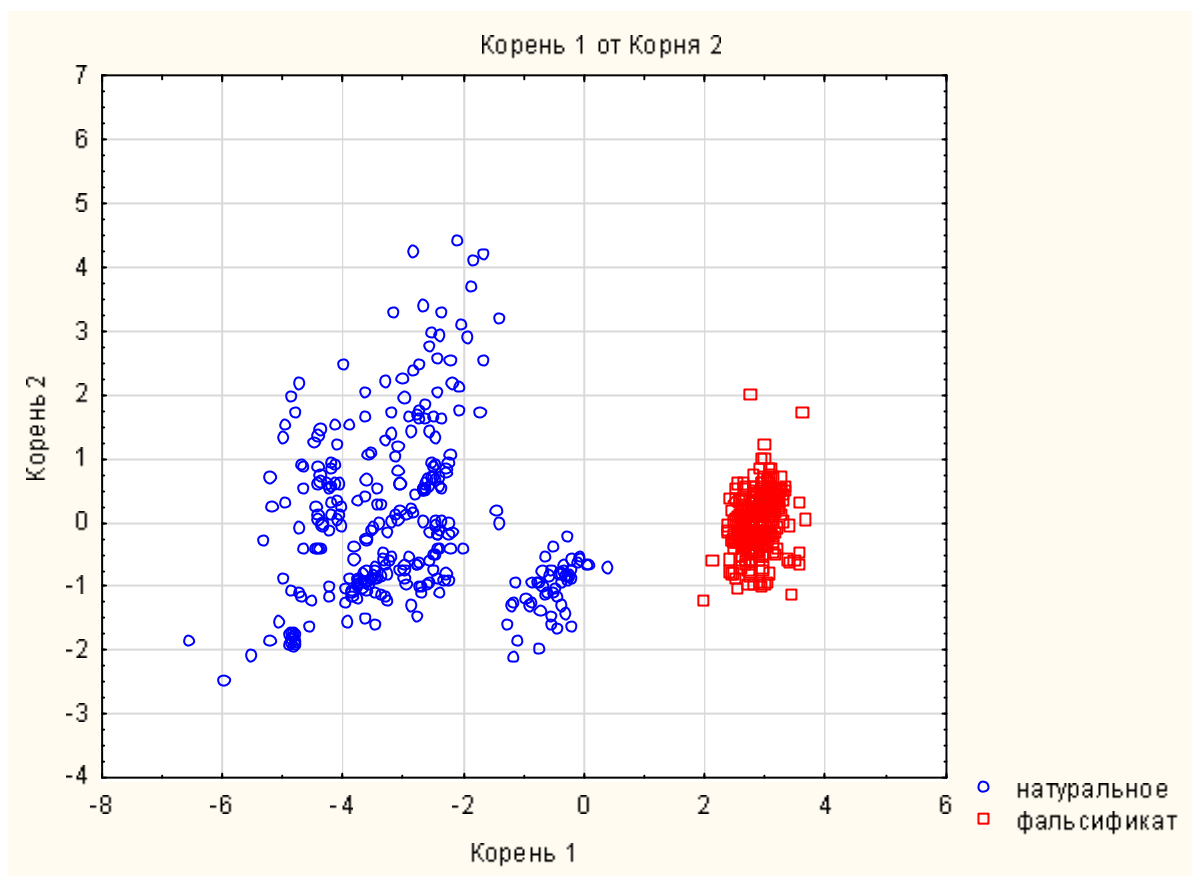


Рисунок 64 – Диаграмма рассеяния канонических корней для натуральных вин и фальсификатов

Из диаграммы видно, что кластеры, соответствующие натуральным винам и фальсификатам, локализованы в разных частях плоскости на значительном расстоянии друг от друга, что говорит об их существенном межгрупповом отличии и высоком сходстве (однородности) образцов вин внутри каждой группы.

Некоторая неоднородность присутствует у натуральных вин – группа вин образует самостоятельный кластер. Дополнительные исследования показали, что это 50 образцов, которые являются винами высокого качества.

Представленные результаты исследований межгрупповой неоднородности натуральных вин и фальсификатов по содержаниям летучих веществ служат предпосылкой для разработки модели логит регрессии при установлении принадлежности образцов к одной из двух групп по данным химического анализа. Бинарные модели применяют, когда зависимая переменная (отклик) может принимать только два значения, т.е., в тех случаях, когда представляет интерес поиск зависимостей между одной или несколькими непрерывными переменными (предикторами) и одной зависимой от них бинарной переменной со значениями 0 и 1 (в нашем случае – натуральное вино и фальсификат). Технически достаточно сложно смоделировать бинарную функцию от непрерывных предикторов, поэтому задачу регрессии формулируют иначе. Предсказывают непрерывную переменную Y из отрезка $[0, 1]$. При этом, если Y меньше, чем 0,5, то бинарной переменной присваивают значение 0, в противном случае – присваивают 1.

Для вычисления Y применяют логистическую функцию:

$$Y = \frac{e^Z}{1+e^Z}, \quad (28)$$

где $Z = b_0 + b_1X_1 + \dots + b_nX_n$. Коэффициенты при b_i ($i = 1, \dots, n$) находят по обучающей выборке, для которой известна принадлежность исследуемых объектов к группам, задаваемым бинарной переменной. В нашем случае – это 330 образцов с известной принадлежностью к натуральным винам или фальсификатам. Логистическая функция обладает тем замечательным свойством, что вне зависимости от коэффициентов регрессии и величин X_i значения отклика Y всегда будут принадлежать отрезку $[0, 1]$.

Для вычисления коэффициентов b_0, b_1, \dots, b_n использовали процедуру *логит регрессии* модуля *Нелинейное оценивание* программы *STATISTICA*. Метод Хука Дживиса в комбинации с квази-ньютоновским при начальных значениях коэффициентов, равных 0,0 и начальном размере шага 1, позволил

построить адекватное уравнение регрессии, так как итоговые потери, оцененные функцией максимального правдоподобия, составили малую величину (0,000000195), а уровень значимости p критерия *Хи-квадрат* меньше 0,05 ($p = 0,000$). Коэффициенты (параметры логит регрессии) для изучаемых компонентов при этом составили для: ацетальдегида = -1,277; этилацетата = -0,255; метанола = -0,015; высших спиртов = -0,045; уксусной кислоты = -0,035 и фурфурола = -0,717.

С учетом вышеперечисленных коэффициентов уравнение для вычисления Z примет вид:

$$Z = 47,872 - 1,277C_A - 0,255C_E - 0,015C_M + 0,045C_{HA} - 0,035C_{AA} - 0,717C_F, \quad (29)$$

где C_A , C_E , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F – концентрации (мг/дм³) летучих веществ ацетальдегида, этилацетата, метанола, суммарного содержания высших спиртов, уксусной кислоты, фурфурола. Чтобы по значениям предикторов сделать прогноз бинарного отклика, надо подставить в выражение (29) числовые значения переменных C_A , C_E , C_M , C_{HA} , C_{AA} , C_F вычислить Z , далее по уравнению (28) вычислить Y . Округлив полученное значение до целого, естественно это будет либо 0 (натуральное вино), либо 1 (фальсификат), получим прогнозное значение отклика.

Об адекватности модели также свидетельствуют результаты классификации категорий образцов вин (натуральных и фальсификатов), предсказанные по построенной модели логит регрессии, в обеих группах на 100% достигнута верная классификация.

Для иллюстрации того, как по логит регрессионной модели возможно предсказание значения бинарного отклика, рассмотрим 2 примера.

Пример 1. Определим категорию образца при следующих значениях концентраций летучих веществ, мг/дм³: $C_A = 80$, $C_E = 110$, $C_M = 95$, $C_{HA} = 500$, $C_{AA} = 650$, $C_F = 50$.

$$Z = 47,872 - 1,277 \cdot 80 - 0,255 \cdot 110 - 0,015 \cdot 95 + 0,045 \cdot 500 - 0,035 \cdot 650 - 0,717 \cdot 50 = -119,863.$$

Следовательно, $Y = e^{-104,312}/(1 + e^{-104,312}) \approx 0$, т.е. образец является натуральным вином.

Пример 2. Определим категорию образца при следующих значениях концентраций летучих веществ, мг/дм³: $C_A = 8$, $C_E = 20$, $C_M = 35$, $C_{HA} = 60$, $C_{AA} = 110$, $C_F = 5$.

$$Z = 47,872 - 1,277 \cdot 8 - 0,255 \cdot 20 - 0,015 \cdot 35 + 0,045 \cdot 60 - 0,035 \cdot 110 - 0,717 \cdot 5 = 27,296.$$

Следовательно, $Y = e^{21,347}/(1 + e^{21,347}) \approx 1$, т.е. образец является фальсификатом.

Логит регрессия обладает недостатком, присущим всем регрессионным моделям: получают достоверные значения отклика – бинарной переменной, если значения предикторов принадлежат диапазонам их изменения, по которым составлена модель. Поэтому, с учетом данных таблиц 86, 87 задачу идентификации фальсификатов целесообразно решать, если $C_A \in [1, 230]$, $C_E \in [5, 175]$, $C_M \in [3, 165]$, $C_{HA} \in [9, 750]$, $C_{AA} \in [5, 900]$, $C_F \in [0, 97]$.

С целью автоматизации вычислительной процедуры в соответствии с уравнениями (28–29) была создана программа на языке Delphi, диалоговое окно которой представлено на рисунке 65 [327]. Для идентификации фальсификата (натурального вина) в поля окна вносят значения концентраций летучих веществ (введены данные из примера 2) и активируют кнопку *Определить категорию образца*. В нижней части окна появится сообщение *фальсификат* или *натуральное вино*.

		Диапазон изменения значений
Ca	8	[1, 230]
Сэ	20	[5, 175]
См	35	[3, 165]
Свс	60	[9, 750]
Су	110	[5, 900]
Сф	5	[0, 100]

Определить категорию образца

фальсификат

Рисунок 65 – Программный модуль идентификации фальсификата (натурального вина)

Таким образом, на примере описанной выборки показана возможность идентификации натуральных вин и фальсификатов при помощи модели бинарных откликов – логит регрессии. По обучающей выборке, состоящей из 330 образцов, построена математическая модель, которая позволяет по концентрации ацетальдегида, этилацетата, метанола, суммарного содержания высших спиртов, уксусной кислоты, фурфурола определить натуральность вин. По аналогии, выявив вещества, наиболее полно описывающие принадлежность образцов к определенным видам алкогольной продукции, можно при помощи модели логит регрессии решить задачу выявления их фальсификатов.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований сделаны следующие **выводы**:

1. Рассмотрен химический состав винограда и изготавливаемой из него винодельческой продукции, показано его качественное и количественное изменение в процессе винификации, созревания и выдержки вин. Установлены основные группы соединений, содержания и соотношения которых определяют качественные характеристики вин, а также играют важную роль в формировании аромата и вкуса напитка.

2. Обоснован и реализован комплекс современных методов физико-химического анализа (методы капиллярной газовой хроматографии, высокоэффективного капиллярного электрофореза) для контроля качества винного дистиллята. Разработанные методики контроля соответствуют требованиям универсальности определения разных классов соединений, содержащихся в вине и дистилляте, экспрессны и обладают высокой информативностью.

3. Обоснована и реализована возможность применения метода высокоэффективного капиллярного электрофореза для установления компонентного состава виноградных вин (определения массовой концентрации основных аминокислот, катионов, анионов), а также получения характерных профилей фенольных веществ, присущих «образам» натуральных виноградных вин.

4. Установлены диапазоны характеристических содержаний калия и приоритетных аминокислот в кубанских винах, которые составляют для сухих белых вин (калий 350–600, пролин 300–600, треонин 20–100, аргинин 10–60 мг/дм³); для сухих красных вин (калий 500–700, пролин 400–1500, треонин 50–200, аргинин 10–60 мг/дм³).

5. Установлены диапазоны характеристических содержаний летучих компонентов, специфичные для сухих белых и красных вин кубанского происхождения: ацетальдегида – 50–150 и 75–200, этилацетата 5–60 и 10–150,

метанола – 50–200 и 100–500, изоамилового спирта – 100–200 и 150–300, 1-гексанола – 10–40 и 20–100, 2,3-бутандиола – 500–950, 2-фенилэтанола – 15–50, фурфурола – 2–10 и 3–15 мг/дм³ соответственно.

6. Показана возможность применения метода многомерного анализа данных – *надежность и позиционный анализ* – для оценки согласованности экспертных оценок посредством вычисления статистики *альфа Кронбаха* – интегрального числового критерия надежности экспертизы вин дегустаторами в балльной шкале. Метод позволил выявить не только объекты экспертизы, по которым в наибольшей степени расходятся мнения экспертов, но и экспертов, мнения которых не согласуются с мнением большинства.

7. Показана целесообразность применения метода интегральной оценки результатов экспертных оценок, основанного на иерархической классификации и заключающегося в оценке сходства (различия) объектов экспертизы посредством геометрического (евклидова) расстояния в системе координат с осями, соответствующими оценкам экспертов в балльной шкале.

8. Методами математической статистики установлена взаимосвязь дегустационной оценки виноградных вин с содержаниями в них основных летучих веществ разных классов (ацетальдегид, этилацетат, метанол, суммарное содержание высших спиртов, уксусная кислота, фурфурол), что позволило прогнозировать дегустационную оценку сухих виноградных вин по содержаниям летучих веществ. Регрессионная модель, описывающая взаимосвязь дегустационной оценки с содержанием в них летучих веществ, показала приемлемую адекватность с данными по дегустации экспертами сухих вин *высокого, среднего и низкого* качества, которые преимущественно верно оцениваются в соответствии с органолептическими свойствами.

9. Установлено, что на вкусовые качества виноградных вин, наряду с содержащимися в них ароматическими соединениями, влияют нелетучие вещества минерального (катионы, анионы) и органического происхождения – аминокислоты. При этом нелетучие вещества, как и ароматические летучие компоненты, вносят вклад в органолептическую и вкусовую оценку качества вин

и, участвуют в формировании итоговой оценки, определяемой экспертами. Построены адекватные статистические модели, способные прогнозировать дегустационную оценку по концентрациям нелетучих веществ. Важным является не только возможность прогнозировать дегустационную оценку, а то, что выявлены основные факторы, влияющие на вкусовые качества вин а, следовательно, и на дегустационную оценку. Это нелетучие вещества – аминокислоты, перечисленные по степени убывания их влияния на вкусовые особенности вин: *пролин, треонин, аргинин*. При этом, дегустационные оценки согласуются с содержанием приоритетных аминокислот в винах.

10. При помощи двумерного частотного анализа (таблиц кростабуляции) выявлено наличие сильной взаимосвязи между двумя способами разделения вин на группы – по величине дегустационных оценок и массовым концентрациям летучих веществ. Исследована структура этой взаимосвязи и установлено, что наибольшее подобие между классификациями образцов вин высокого качества, фальсификатами; несколько меньшее – между винами низкого качества и незначительное – между винами среднего качества.

11. Обосновано использование методов дискриминантного анализа и общей линейной модели для определения качества вин в номинальной шкале с последующим достоверным прогнозированием дегустационной оценки. Дискриминантный анализ позволяет при известных содержаниях летучих веществ в вине – ацетальдегида, этилацетата, метанола, фурфурола, высших спиртов, уксусной кислоты определить принадлежность вина к одной из категорий качества – высокое, среднее, низкое фальсификат. Построенная линейная модель регрессии с учетом определенной категории виноградного вина по концентрациям летучих веществ с высокой достоверностью определяет прогностическое значение дегустационной оценки. Показана возможность применения статистического метода бинарных откликов – логистической регрессии для идентификации фальсификатов вин по содержанию летучих веществ в вине – ацетальдегида, этилацетата, метанола, фурфурола, высших спиртов, уксусной кислоты. Для автоматизации трудоемких вычислений разработаны программа для ЭВМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Косюра, В.Т. Время упущенных возможностей и потерянных надежд / В.Т. Косюра // *Виноград*. – 2008. – С.24–40.
2. Хуршудян, С.А. Фальсифицированные пищевые продукты: классификация и определения / С.А. Хуршудян // *Пищевая промышленность*. – 2008. – №10. – С.86.
3. Гаврилина, В.А. Методология контроля вина распознаванием: дис. ... д-ра техн. наук: 05.11.13. / В.А. Гаврилина. – Орел, 2013. – 259 с.
4. Точилина, Р.П. Качество винодельческой продукции и проблемы ее идентификации / Р.П. Точилина // *Виноград и вино России*. – 2001. – №3. – С.8–9.
5. Шелудько, О.Н. Технологические приемы и сортовые особенности производства столовых сухих красных вин из новых сортов винограда / О.Н. Шелудько, Т.И. Гугучкина, Н.К. Стрижов // *Виноделие и виноградарство*. – 2015. – №3. – С.25–28.
6. Богатырева, А.Н. Национальная политика в области приоритетного развития науки АПК / А.Н. Богатырева // *Техника в сел. хоз-ве*. – 1994. – №5. – С.2.
7. Приоритеты развития науки и научного обеспечения в пищевых отраслях АПК. – М: Пищ. пром-сть, 1995. – 176 с.
8. Комплексная научно-техническая программа работ по малоотходной и безотходной технологиям пищевых производств при переработке сельскохозяйственного сырья. – М.: ЦНИИТЭИпищепром, 1982. – 42 с.
9. Разуваев, Н.И. Переработка вторичного сырья виноделия / Н.И. Разуваев, А.А. Вулихман. - М: Пищепромиздат. – 1961. – 80 с.
10. Разуваев, Н.И. Комплексная переработка вторичных продуктов виноделия / Н.И. Разуваев. – М.: Пищ. пром-сть, 1975. – 168 с.
11. Шольц, Е.П. Технология переработки винограда / Е.П. Шольц, С.В. Пономарев. – М.: Агропромиздат, 1990. – 447 с.

12. Зайчик, Б.Ц. Разработка перспективных методов контроля качества винодельческой продукции, приготовленной из вишних дистиллятов: автореф. дисс... канд. техн. наук. 05.18.07: Б.Ц. Зайчик. – Москва, 2011. – 24 с.
13. International Methods of Analysis of Wines and Musts [электронный ресурс] режим доступа: <http://www.oiv.int/oiv/info/enmethodesinternationalesvin>.
14. Вина и алкогольные напитки. Директивы и регламенты Европейского Союза. М.: ИПК Издательство стандартов, 2000. – 616 с.
15. Оганесянц, Л.А. Мировое производство и потребление вина в 2006 году. Предварительная оценка / Л.А. Оганесянц, А.Л. Панасюк // Виноделие и виноградарство. – 2005. – №6. – С.12–13.
16. Оганесянц, Л.А. Статистические данные по мировому производству вина / Л.А. Оганесянц, А.Л. Панасюк // Виноделие и виноградарство. – 2007. – №2. – С.6–7.
17. Оганесянц, Л.А. Виноградарство и виноделие в мире / Л.А. Оганесянц // Виноделие и виноградарство. – 2012. – №4. – С.4–6.
18. Оганесянц, Л.А. О состоянии виноградарства и виноделия Российской Федерации / Л.А. Оганесянц // Виноделие и виноградарство. 2013. №1. С.4–6.
19. 38th World Congress of Vine and Wine. [электронный ресурс] режим доступа: <http://www.oiv2015.de/nc/en>.
20. Егоров, Е.А. Географические зоны производства вин и национальных коньяков (бренди) высокого качества на юге России / Е.А. Егоров, Т.И. Гугучкина, А.М. Аджиев, И.В. Оселедцева. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ; Просвещение-Юг, 2013. – 155 с.
21. Агеева, Н.М. Идентификация и экспертиза виноградных вин и коньяков / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ; Просвещение-Юг, 2008. – 174 с.
22. Косюра, В.Т. Основы виноделия / В.Т. Косюра, Л.В. Донченко, В.Д. Надькта. – М.: ДеЛи принт, 2004. – 440 с.
23. Нилов, В.И. Химия виноделия и коньячного производства / В.И. Нилов,

И.М. Скурихин. – М: Пищепромиздат, 1960. – 272 с.

24. Соболев, Э.М. Технология натуральных и специальных вин / Э.М. Соболев. – Майкоп: ГУРИПП «Адыгея», 2006. – 400 с.

25. Нужный, В.П. Современные представления о токсических и пищевых свойствах вина / В.П. Нужный // *Виноград и вино России*. – 1996. – №2. – С.29–32.

26. Савчук, С.А. Контроль качества и идентификация подлинности коньяков хроматографическими методами / С.А. Савчук // *Методы оценки соответствия*. – 2006. – №8. – С.18–25.

27. Кишковский, З.Н. Химия вина / З.Н. Кишковский, И.М. Скурихин. – М.: Агропромиздат, 1988. – С.45–67.

28. Филиппович, Ю.Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. – М.: Агар, 1999. – 507 с.

29. Joon-Young, J. Production of 1,2-Propanediol from Glycerol in *Saccharomyces cerevisiae* / J. Joon-Young, H. S. Yun, J. Lee, M.-K. Oh // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – V.21. – №8. – P.846–853.

30. OENO 20/2003 Commendium of international methods of analysis OIV. Maximum acceptable limits of various substances contained in wine OIV-MA-C1-01
электронный ресурс Режим доступа:
<http://www.oiv.int/oiv/info/enmethodesinternationalesvin>

31. Савчук, С.А. Новые методические подходы к контролю качества алкогольной продукции и к выявлению наркотических веществ в биологических средах хроматографическими и хромато-масс-спектрометрическими методами: автореф. дисс... д-ра хим. наук: 02.00.02. / С.А. Савчук. – С-Петербург, 2012. – 47 с.

32. Карпов, С.С. Особенности образования некоторых сложных эфиров при брожении виноградного сусла / С.С. Карпов, Г.Г. Валуйко, А.А. Налимова, А.И. Кептине // *Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии*. – 1982. – №2. – С.31–33.

33. Родонуло, А.К. Основы биохимии виноделия / А.К. Родонуло. – М: Легк. и пищ. пром-сть, 1983. – 240 с.

34. Стабников, В.Н. Перегонка и ректификация этилового спирта / В.Н. Стабников. – М.: Пищ. Пром-сть. – 1969. – 456 с.
35. Маринченко, В.А. Технология спирта / В.А. Маринченко, В.А. Смирнов. – М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1981. – 416 с.
36. Струкова, В.Е. Карбониламидные реакции и их интенсификация при тепловой обработке крепленых вин: автореф. дисс... канд. техн. наук: 05.18.07 / В.Е. Струкова. – Краснодар, 1983. – 26 с.
37. Негруль, А.М. Амπεлография с основами виноградарства / А.М. Негруль, Л.Н. Гордеева, Т.И. Калмыкова // Учеб. пособ. для технол. вузов. – М.: Высшая школа, 1979. – С. 199.
38. Pazo, M. Perfil de aminoácidos libres de los vinos Albarino y Godello / M. Pazo, E. Almitfro, C. Traveao, [et al.] // Alimentam. – 2004. – V.41. – №357. – P.111–117.
39. Христюк, В.Т. Брожение виноградного сусла и мезги после их обработки электромагнитным полем крайне низкочастотного диапазона / В.Т. Христюк, Л.Н. Узун, М.Г. Барышев // Изв. ВУЗов. Пищевая технология. – 2002. №5 6. С.43 44.
40. Herbert, P. Detection of port wine imitation by discriminant analysis using free amino acids profiles / P. Herbert, P. Barros, A. Alves // Amer. J. Enol. and Viticult. – 2000. – V.51. – №3. – P.262–268.
41. Ough, C. S. Further studies on proline concentration in grapes and wines / C. S. Ough, R. M. Stashak // Amer. J. Enol. and Viticult. – 1974. – V.25. – №1. – P.7–12.
42. Bakker, J. The colours, pigment and phenol contents of young port wines: Effects of cultivar, season and site / J. Bakker, P. Bridle, C. F. Timberlake // Vitis. – 1986. – V.25. – P.40–52.
43. Etievant, P. Varietal and geographic classification of French red wines in terms of pigments and flavonoid compounds / P. Etievant, P. Schlich, A. Bertrand // J. Sci. Food Agric. – 1988. – V.42. – P.39–54.
44. Jackson, M.G. Red wine quality: Correlations between colour, aroma and

flavor and pigment and other parameters of young Beaujolais / M. G. Jackson, C. F. Timberlake, P. Bridle // *J. Sci. Food Agric.* – 1978. – V.29. – P.715–727.

45. Joslyn, M.A. Relation of type and concentration of phenolics to the color and stability of rose wines / M. A. Joslyn, A. Little // *Amer. J. Enol. and Viticult.* – 1967. – V.18. – P.138–148.

46. Ramos, R. A preliminary study of noncoloured phenolics in wines of varietal white grapes (codega, gouvcio and malvasia fina): effects of grape variety, grape maturation and technology of winemaking / R. Ramos, P.B. Andrade, R. Scabra, C. Pereira, M.A. Ferreira, M.A. Faia // *Food Chem.* – 1999. – V.67. – P.39–44.

47. Валуйко, Г.Г. Биохимические основы технологии красных вин: Автореф. дисс... д-ра техн. наук. 05.18.07 / Г.Г. Валуйко. – Краснодар: Изд-во Краснодар. Политех. ин-т, 1972. – 74 с.

48. McDonald, M.S. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins / M.S. McDonald, M.M. Hughes, Burns, J.; Lean, M. E. J.; Matthews, D.; Crozier, A. / *J. Agric. Food Chem.* – 1998. – V.46. – P.368–375.

49. Delgado, R. Evolucion de la composicion fenolica de las uvas tintas durante la maduracion / R. Delgado, M. Pedro // *Alimentaria.* – 2001. – V.38. – №326. – P.139–145.

50. Christie, P.J. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings / P.J. Christie, M.R. Alfenito, V. Walbot // *Planta.* – 1994. – V.194. – P.541–549.

51. Macheix, J. J. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines / J. J. Macheix, J. C Sapis, A. Fleuriet // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 1991. – V.30. – P.441–486.

52. Graham, T.L. Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soybean seedling tissue and in seed and root exudates / T.L. Graham // *Plant Physiol.* – 1991. – V.95. – P.594–603.

53. Kliewer, WM. Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on

coloration and composition of emperor grapes / WM. Kiewer // Amer. J. Enol. and Viticult. – 1977. – V.28. – P.96–103.

54.Тютюнник, В.И. Динамика антоцианов при созревании и хранении ягод некоторых стандартных и гибридных сортов винограда в предгорной зоне Крыма / Автореф. дис... канд. биол. наук / В.И Тютюнник. – Кишинев: Изд-во Типограф. Газет. изд-ва Крымск. Обкома КП Украины, 1969. – 21 с.

55.Yinrong, Lu. Unexpected rearrangement of pyranoanthocyanidins to furoanthocyanidins / Lu. Yinrong, L. Yeap Foo // Tetrahedron Letters. – 2002. – V.43. – P.715–718.

56.Dallas, C. Effect of SO₂ on the extraction of individual anthocyanins and colored matter of three Portuguese grape varieties during winemaking / C. Dallas, O. Laureano // Vitis. – 1994. – V.33. – P.41–47.

57.Revilla, I. Compositional changes during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: low molecular-weight phenols and flavan-3-ol derivative levels / I. Revilla, M. Gonzalez-Sanjose // Food Chemistry. – 2003. – V.80. – P.205–214.

58.Piermattei, B. Preliminary studies on the use of dried grape stems in red winemaking / B. Piermattei, A. Amatti, M. Castellari, G.A. Felli, M. Simon // Vitis: Viticult. – 2000. – V.39. – №1–2. – P.4–46.

59.Оганесянц, Л.А. Дуб и виноделие / Л.А. Оганесянц. - М: Агропищепром-издат, 2001. – 359 с.

60.del Alamo Sanza, M. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips / M. del Alamo Sanza, I. Nevares Domínguez , L.M. Cárcel Cárcel // Anal. Chim. Acta. – 2004. –V.513. – P.229–237.

61. Агеева, Н.М. Исследование флавоноидов и нефлавоноидов в красных винах Краснодарского края / Н.М. Агеева, В.А. Маркосов, Т.И. Гугучкина, Л.Э. Чемисова, Ю.А. Огай // Виноделие и виноградарство. – 2015. – №4. – С.26–29.

62. Atanasova, V. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making / V. Atanasova, H. Fulcrand, V. Cheynier, M. Moutonnet // Anal. chim. acta. – 2002. – V.458. – №1. – P.15–27.

63. Mateus, N. Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during port wine aging / N. Mateus, V. De Freitas // *J. Agr. and Food Chem.* – 2001. – V.49. – №11. – P.5217–5222.

64. Магомедов, З.Б. Красящие и фенольные вещества винограда устойчивых сортов и динамика их содержания в винах при выдержке / З.Б. Магомедов, Г.А. Макуев // *Хранение и переработка сельхозсырья.* –2001. – №10. – С.51–53.

65. ГОСТ Р 55242-2012. Вина защищенных географических указаний и вина защищенных наименований места происхождения. Общие технические условия. М., 2013. – 12 с.

66. ГОСТ Р 52523-2006. Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия. М., 2008. – 12 с.

67. ГОСТ Р 52195-2003. Вина ароматизированные. Общие технические условия. М., 2009. – 8 с.

68. ГОСТ Р 52404-2005. Вина специальные и виноматериалы специальные. Общие технические условия. М., 2006. – 8 с.

69. ГОСТ Р 51158-2009. Вина игристые. Общие технические условия. М., 2009. – 8 с.

70. СанПиН 2.3.2.1078–01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – М.: Федеральный Центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. –144 с.

71. Николаева, М.А. Идентификация и обнаружение фальсификации продовольственных товаров: учебное пособие. / М.А. Николаева, М.А. Положишникова. – М.: ИД «ФОРУМ»: ИНФРА-М, 2009. – 464 с.

72. Holmberg, L. Wine fraud / L. Holmberg // *International Journal of Wine Research.* – 2010. – V.2. – P.105–113.

73. Martin, G. J. The chemistry of chaptalization / G. J. Martin // *Endowour, New Series.* – 1990. – V.14. – №3. – P.137–143.

74. Ogrinc, N. The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review / N. Ogrinc, I.J. Kosir, J.E. Spangenberg, J. Kidric // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2003. – V.376. – P.424–430.

75. Савчук, С.А. Идентификация винодельческой продукции методами высокоэффективной хроматографии и спектрометрии / С.А. Савчук, В.Н. Власов // *Виноград и вино России*. – 2000. – №5. – С.5–13.

76. Гугучкина, Т.И. Поиск маркеров для российских вин высшей категории качества / Т.И. Гугучкина, М.Г. Марковский // *Виноделие и виноградарство*. – 2015. – №3. – С.11–17.

77. ГОСТ Р 51149-98. Продукты винодельческой промышленности. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение. М., 2009. – 6 с.

78. ГОСТ Р 51074-2003. Продукты пищевые. Информация для потребителя. Общие требования. М., 2006. – 23 с.

79. ГОСТ Р 51653-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта. М., 2009. – 6 с.

80. ГОСТ 13192-73. Вина, виноматериалы и коньяки. Метод определения сахаров. М., 2011. – 10 с.

81. ГОСТ Р 51621-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации титруемых кислот. М., 2009. – 5 с.

82. ГОСТ Р 51654-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации летучих кислот. М., 2009. – 7 с.

83. ГОСТ Р 51620-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации приведенного экстракта. М., 2009. – 6 с.

84. ГОСТ Р 32113-2013. Продукция винодельческая. Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты. М., 2007. – 8 с.

85. ГОСТ Р 51655-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации свободного и общего диоксида серы. М., 2009. – 6 с.

86. ГОСТ Р 51766-2001. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка. М., 2011. – 10 с.
87. ГОСТ Р 51823-2001. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод инверсионно-вольтамперометрического определения содержания кадмия, свинца, цинка, меди, мышьяка, ртути, железа и общего диоксида серы. М., 2009. – 18 с.
88. ГОСТ 26927-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути. М., 2010. – 15 с.
89. ГОСТ 26930-86. Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка. М., 2010. – 6 с.
90. ГОСТ 26932-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца. М., 2010. – 11 с.
91. ГОСТ 26933-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия. М., 2010. – 10 с.
92. ГОСТ 30178-96. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. М., 2010. – 8 с.
93. ГОСТ 30538-97. Продукты пищевые. Методика определения токсичных элементов атомно-эмиссионным методом. М., 2010. – 27 с.
94. Панасюк, А.Л. Критерии качества белых вин Нового Света / А.Л. Панасюк, М.И. Бабаева // Виноделие и виноградарство. – 2013. – №5. – С.22–24.
95. Точилина, Р.П. О совершенствовании методов идентификации винодельческой продукции / Р.П. Точилина // Виноделие и виноградарство. – 2007. – №2. – С.14–15.
96. ГОСТ Р 52813-2007. Продукция винодельческая. Методы органолептического анализа. М., 2008. – 13 с.
97. ГОСТ Р 32051-2013. Продукция винодельческая. Методы органолептического анализа. М., 2008. – 13 с.
98. ГОСТ Р ИСО 3972–2005. Органолептический анализ. Методология. Метод исследования вкусовой чувствительности. М., 2006. – 7 с.

99. Кушнерева, Е.В. Математическое моделирование зависимостей качества столовых вин от физико-химических показателей / Е.В. Кушнерева, Т.И. Гугучкина, М.И. Панкин, Л.И. Лопатина // *Виноделие и виноградарство*. – 2011. – №4. – С.18–21.

100. Кушнерева, Е.В. Разработка критериев подлинности природно-полусладких и природно-полусухих вин / Е.В. Кушнерева, Т.И. Гугучкина // *Известия вузов. Пищевая технология*. – 2012. – №5–6. – С.70–72.

101. Панасюк, А.Л. Показатели «зола и ее щелочность» в системе критериев подлинности столовых вин / А.Л. Панасюк, Е.И. Кузьмина, М.А. Захаров, Л.Н. Харламова, И.А. Корнилина // *Виноделие и виноградарство*. – 2011. – №1. – С.20–21.

102. ГОСТ Р 53954-2010 Продукция винодельческая. Идентификация. Метод определения массовой концентрации золы и щелочности золы. М.: Стандартинформ, 2012. 12 с.

103. Cliff, M.A. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines / M.A. Cliff, M.C. King, J. Schlosser // *Food Research International*. 2007. V.40. P.92–100.

104. González, G. Multivariate data analysis in classification of must and wine from chemical measurements / G. González, E.M. Peña-Méndez // *Eur. Food Res. Technol.* – 2000. – V.212. – P.100–107.

105. Лунина, Л.В. Разработка способов оценки качества и идентификации виноградных вин и винных напитков: автореф. дисс... канд. техн. наук: 05.18.01. / Л.В. Лунина. – Краснодар, 2005. – 21 с.

106. Агеева, Н.М. Еще раз о фальсификации виноградных вин / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина, М.Г. Марковский // *Виноделие и виноградарство*. – 2002. – №4. – С.22–23.

107. Валгина, Л.В. Идентификация винодельческой продукции / Л.В. Валгина, В.В. Жирова, Е.А. Смирнова // *Виноделие и виноградарство*. – 2010. – №1. – С.10–11.

108. Сенькина, З.Е. Инструментальные методы анализа для идентификации виноградных вин / З.Е. Сенькина, В.Н. Арбузов, Б.М. Алешкин // Виноделие и виноградарство. – 2004. – №1. – С.25–27.

109. Валгина, Л.А. Разработка комплексной товароведной оценки и идентификации столовых полусладких вин: дис.... канд. техн. наук: 05.18.15. М., 2011. – 147 с.

110. ГОСТ 32710-2014 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Идентификация. Метод определения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ спиртов и сахаров в винах и сулах. М.: Стандартинформ, 2014. – 26 с.

111. Ларионов, А.Б. Содержание 5-гидроксиметилфурфузола как дополнительный показатель качества алкогольной продукции / А.Б. Ларионов, Д.Г. Токмин, Н.Н. Сарварова, И.А. Марченко, М.К. Герасимов // Виноделие и виноградарство. – 2013. – №5. – С.25–27.

112. Leitão, M. C. A survey of biogenic amines in commercial Portuguese wines / M. C. Leitão, A. P. Marques, M. V. San Romão // Food Control. – 2005. – V.16. – P.199–204.

113. Кушперева, Е.В. Определение содержания биогенных аминов в виноградных винах / Е.В. Кушперева, М.Г. Марковский, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 2012. – №1. – С.106–108.

114. Martuscelli, M. Biogenic amines content as a measure of the quality of wines of Abruzzo (Italy) / M. Martuscelli, G. Arfelli, A.C. Manetta, G. Suzzi // Food Chemistry. – 2013. – V.140. – P.590–597.

115. Arce, L. Direct determination of biogenic amines in wine by integrating continuous flow clean-up and capillary electrophoresis with indirect UV detection / L. Arce, A. Rios, M. Valcarcel // Journal of Chromatography A. – 1998. – V.803. – P.249–260.

116. Soufleros, E.H. Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage / E.H. Soufleros, E. Bouloumpasi, C. Tsarchopoulos, C.G. Biliaderis // Food Chem. – 2003. – V.80. – №.2. – P.261–273.

117. Скорбанова, Е.А. Современные методики выявления фальсифицированных вин / Е.А. Скорбанова, Н.Ф. Кайряк, З.А. Мамакова // *Виноделие и виноградарство*. – 2005. – №6. – С.26–27.

118. Захарова, А.М. Определение органических кислот, углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / А.М. Захарова, Л.А. Карцова, И.Л. Гришштейн // *Аналитика и контроль*. – 2013. – Т.17. – №2. – С.204–210.

119. ГОСТ Р 52841-2007. Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза. М., 2008. – 7 с.

120. Valdemar, I. Using capillary electrophoresis for the determination of organic acids in Port wine / I. Valdemar, S.F. Susana, D. Lima, A.C. Duarte // *Analytica Chimica Acta*. – 2004. – V.513. – P. 163-167.

121. Сарварова, Н.Н. Определение содержания полиолов методом ГХ-МС без экстракции для оценки качества столовых вин / Н.Н. Сарварова, И.А. Марченко, И.Х. Ризванов, Д.Г. Токмин // *Виноделие и виноградарство*. – 2012. №6. С.16–20.

122. Способ определения натуральности белых вин : Пат. 2271000 Рос. Федерация : G01N33 /14 / Э.М. Соболев, Д.В. Кудлай; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Кубанский гос. технологический университет. – № 2004125716/13 ; заявл. 23.08.2004 ; опубл. 27.02.2006, Бюл. № 6. – 6с.

123. Bridle, P. A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigments / P. Bridle, C. Garcia-Viguera // *Food Chemistry*. – 1996. – V.55. – №.2. – P.111–113.

124. Точилина, Р.П. К проблеме идентификации вин. Влияние пентоз на общее содержание сахаров в столовых винах / Р.П. Точилина, В.А. Песчаная, Е.В. Познанская, С.А. Гончаров, С.М. Ларина // *Виноделие и виноградарство*. – 2011. – №1. – С.13.

125. Положишикова, М.А. Определение биологической ценности и идентификация красных виноградных вин по содержанию флаванолов и

фенилкарбоновых кислот / М.А. Положинникова, О.Н. Перельгин // Виноделие и виноградарство. – 2005. – №6. – С.22–24.

126. Способ определения происхождения органических оксикислот в винах и сокосодержащих напитках : Пат. 2487348 Рос. Федерация : G01N33 /02 G01N33 /14 / В.В. Жирова, Е.И. Кузьмина, А.М. Зякун, А.Л. Панасюк, Л.А. Оганесян, В.Н. Захарченко; заявитель и патентообладатель ГНУ ВНИИПБ и ВП. – №2012125180/15 ; заявл. 19.06.2012 ; опубл. 10.07.2013, Бюл. № 19. – 12 с.

127. Fauhl, C. Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of 3-Methoxy-1,2-Propanediol and Cyclic Diglycerols, By-Products of Technical Glycerol, in wine: interlaboratory study / C. Fauhl, R. Wittkowski, J. Lofthouse, S. Hird, P. Brereton, G. Versini, M. Lees, C. Guillou // Journal of AOAC International. – 2004. – V.87. – P.1179–1188.

128. Nieuwoudt, H.H. Glycerol in south african table wines: an assessment of its relationship to wine quality / H.H. Nieuwoudt, B.A. Prior, S. Pretorius, F.F. Bauer // S. Afr. J. Enol. Vitic. – 2002. – V.23. – №1. – P.22–30.

129. ГОСТ Р 53193-2008. Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза. М., 2010. – 11 с.

130. ГОСТ Р 53154-2008. Вина и виноматериалы. Определение синтетических красителей методом капиллярного электрофореза. М., 2009. – 11 с.

131. Колеснов, А.Ю. Масс-спектрометрия стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в винодельческой продукции для установления ее подлинности / А.Ю. Колеснов, И.А. Филатова, Д.Г. Задорожная, О.А. Малошицкая // Виноделие и виноградарство. – 2012. – №6. – С.10–15.

132. Колеснов, А.Ю. Методические и экспертные вопросы оценки вин и другой винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невиноградного происхождения / А.Ю. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая, М. Зенина, И. Питрюк // Виноделие и виноградарство. – 2014. – №6. – С.4–11.

133. Жиров, В.М. Качественный и количественный анализ элементов в винах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой /

В.М. Жиров, О.П. Преснякова, О.К. Неудахина, М.В. Доронин // *Виноделие и виноградарство*. – 2012. – №6. – С.30–31.

134. Calderone, G. Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages / G. Calderone, C. Guillou // *Food Chemistry*. – 2008. – V.106. – P.1399–1405.

135. Перельгин, О.Н. Установление подлинности сухих виноградных вин на основе физико-химических показателей: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.15. / О.Н. Перельгин. – М., 2004. – 140 с.

136. Guyon, F. Intrinsic ratios of glucose, fructose, glycerol and ethanol $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio determined by HPLC-co-IRMS: toward determining constants for wine authentication / F. Guyon, L. Gaillard, M.-H. Salagoïty, B. Médina // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2011. – V.401. – P.1551–1558.

137. Cabañero, A.I. Isotope ratio mass spectrometry coupled to liquid and gas chromatography for wine ethanol characterization / A.I. Cabañero, J.L. Recio, M. Rupérez // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2008. – V.22. – P.3111–3118.

138. Cabañero, A.I. Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry / A.I. Cabañero, J.L. Recio, M. Rupérez // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – V.58. – P.722–728.

139. Versini, G. Stable isotope analysis in grape products: ^{13}C -based internal standardization methods to improve the detection of some types of adulterations / G. Versini, F. Camina, M. Ramponia, E. Dellacassa // *Analytica Chimica Acta*. – 2006. – V.563. – P.325–330.

140. Кравченко, С.Н. Разработка математической модели оценки качества продукции / С.Н. Кравченко, Е.С. Каган, А.А. Столетова // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. – 2011. – №4. – С.105–109.

141. Charlton, A.J. Multivariate discrimination of wines with respect to their grape varieties and vintages / A.J. Charlton, M.S. Wrobel, I. Stanimirova, M. Daszykowski, H.H. Grundy, B. Walczak // *Eur. Food Res. Technol.* – 2010. – V.231. – P.733–743.

142. Способ определения происхождения этанола в натуральном виноградном вине или виноматериале : Пат. 2410683 Рос. Федерация : G01N33 /14 / Л.А. Оганесянц, А.Л. Панасюк, А.М. Зякун, Е.И. Кузьмина, Л.Н. Харламова, В.В. Жирова, А.А. Шилкин, В.Н. Захарченко ; заявитель и патентообладатель ГНУ ВНИИПБ и ВП. – № 2009125443/10 ; заявл. 13.07.2009; опубл. 27.01.2011, Бюл. №2. – 10с.

143. Способ определения сахара невинградного происхождения в виноградном вине или виноматериале : Пат. 2410684 Рос. Федерация : G01N33 /14/ Л.А. Оганесянц, А.Л. Панасюк, А.М. Зякун, Е.И. Кузьмина, Л.Н. Харламова, А.А. Шилкин, Б.П. Баскунов ; заявитель и патентообладатель ГНУ ВНИИПБ и ВП. – № 2009125446/10 ; заявл. 13.07.2009; опубл. 27.01.2011, Бюл. №2. – 10с.

144. Дергунов, А.В. Влияние биохимического состава виноматериалов из белых перспективных сортов винограда на качество винодельческой продукции / А.В. Дергунов, С.А. Лопиц, О.И. Ильяшенко // Виноделие и виноградарство. 2012. – №4. – С.22–25.

145. Košir, I. J. Use of SNIF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of chaptalisation and geographical origin of wines (the example of Slovenian wines) / I.J. Košir, M. Kocjančičb, N. Ogrince, J. Kidrič // *Analytica Chimica Acta*. – 2001. – V.429. – P.195–206.

146. Способ идентификации объекта путем построения его характеристического электрофоретического профиля : Пат. 2327978 Рос. Федерация : G01N27 /447 / А.А. Сидорова, О.В. Ганжа ; заявитель и патентообладатель ООО Центр коллективного пользования «Аналитическая спектрометрия». – № 2006118233/28 ; заявл. 22.05.2006 ; опубл. 27.06.2008, Бюл. № 18. – 7 с.

147. Velten, K. New methods to optimize wine production at all stages from vineyard to bottle / K. Velten, J. Muller, D. Schmidt // 38th World Congress of Vine and Wine. [электронный ресурс] режим доступа: http://www.bio_conferences.org/articles/bioconf/abs/2015/02/contents/contents.html_oiv_2015_02013.pdf

148. Гаврилина, В.А. Применение метода главных компонент для идентификации и сравнения натуральных вин. Часть 2 Критерии идентичности и подобия красных сухих вин при использовании комбинации метода главных компонент и ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием / В.А. Гаврилина, О.И. Мальцева, Д.С. Булгаков, С.Н. Сычев, К.С. Сычев // Виноделие и виноградарство. – 2007. – №3. – С.30–32.

149. Арамина, А.А. Оценка соответствия винодельческой продукции нормативным требованиям / А.А. Арамина, В.В. Садовой // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 2011. – № 5–6. – С.92–94.

150. Duchowicza, P.R. Amino acid profiles and quantitative structure–property relationship models as markers for Merlot and Torrontes wines / P.R. Duchowicz, M.A. Giraudob, E.A. Castroa, A.B. Pomilio // Food Chemistry.- 2013.- V. 140.- P. 210–216.

151. Fernandes, J.R. Wine fingerprinting using a bio-geochemical approach / J.R. Fernandes, L. Pereira, P. Jorge, L. Moreira, H. Gonzalves, L. Coelho, D. Alexandre, J. Eiras-Dias, J. Brazko, P. Clemaco, M. Baleiras-Couto, S. Catarino, A. Graza, P. Martins-Lopes // 38th World Congress of Vine and Wine. [электронный ресурс] режим доступа: http://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2015/02/contents/contents.html_oiv2015_02021.pdf

152. Urbano, M. Ultraviolet–visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines / M. Urbano, M. D. Luque de Castro, P.M. Pérez, J. García-Olmo, M.A. Gómez-Nieto // Food Chemistry. – 2006. – V.97. – P.166–175.

153. Guilleán, D. Determination of the Age of Sherry Wines by Regression Techniques Using Routine Parameters and Phenolic and Volatile Compounds / D. Guilleán, M. Palma, R. Natera, R. Romero, C.G. Barroso // J. Agric. Food Chem. – 2005. – V.53. – P.2412–2417.

154. Петров, В.И. Разработка схемы идентификации натуральных вин по результатам их мультиэлементного анализа: дисс. ... канд. хим. наук: 02.00.02. / В.И. Петров. – Краснодар, 2013. – 157 с.

155. Гержикова, В.Г. Методы контроля качества винодельческой продукции / В.Г. Гержикова, В.А. Загоруйко // *Виноделие и виноградарство*. – 2003. – №5. – С. 24–26.

156. Arozarena, I. Multivariate differentiation of Spanish red wines according to region and variety / I. Arozarena, A. Casp, R. Marín, M. Navarro // *J. Science Food and Agriculture*. – 2000. – V.80. – P.1909–1917.

157. Ступакова, Р.К. Контроль качества вина / Р.К. Ступакова, Е.И. Сергеев // *Виноделие и виноградарство*. – 2001. – №4. – С.15.

158. Seeber, R. Multivariate data analysis in classification of musts and wines of the same variety according to vintage year / R. Seeber, G. Sferlazzo, R. Leardi, A. Dalla Serra, G. Versini // *J. Agric. Food Chem.* – 1991. – V.39. – №10. – P.1764–1769.

159. Perestrelo, R. In-Depth search focused on furans, lactones, volatile phenols, and acetals as potential age markers of madeira wines by comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry combined with solid phase microextraction / R. Perestrelo, A.S. Barros, J.S. Câmara, S.M. Rocha // *J. Agric. Food Chem.* – 2011. – V.59. – P.3186–3204.

160. Pancque, P. Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing / P. Pancque, M.T. Álvarez-Sotomayor, A. Clavijo, I.A. Gómez // *Microchemical Journal*. – 2010. – V.94. – P.175–179.

161. Cuadros-Inostroza, A. Discrimination of wine attributes by metabolome analysis / A. Cuadros-Inostroza, P. Giavalisco, J. Hummel, A. Eckardt, L. Willmitzer, H. Peña-Cortés // *Anal. Chem.* – 2010. – V.82. – P.3573–3580.

162. Хибахов, Т.С. Основные условия развития качественного виноделия / Т.С. Хибахов // *Виноделие и виноградарство*. – 2011. – №5. – С.8–9.

163. Галицкая, Ю.Н. Перспективы развития предприятий винодельческой отрасли Кубани / Ю.Н. Галицкая, Т.А. Мартынова // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. – 2006. – №4. – С.9–12.

164. Кайшев, В.Г. Виноградарство и виноделие России. Развитие производства за 1999-2003 гг., проблемы и перспективы / В.Г. Кайшев, А.М. Усачев // *Виноделие и виноградарство*. – 2004. – №2. – С.4–8.

165. Толоков, Н.Р. Правовое регулирование наименований вин по происхождению в России / Н.Р. Толоков // Виноделие и виноградарство. – 2005. – №2. – С.9–10.

166. Тимофеев, Р.Г. Разработка технологии крепких вин с использованием этилового спирта виноградного происхождения: автореф. дисс... канд. техн. наук 05.18.07. / Р.Г. Тимофеев. – Ялта, 1999. – 24 с.

167. Неудахина, О.К. Разработка новых технологических присмов производства крепких вин: автореф. дисс... канд. техн. наук 05.18.07. / О.К. Неудахина. – М., 1993. – 23 с.

168. Меньшов, В.А. Проблемы контроля качества и идентификации продукции виноделия методами математической статистики / В.А. Меньшов, М.А. Гагарин, П.В. Яковлев // Виноград и вино России. – 1997. – №2. – С.14–20.

169. Gambetta, J.M. Factors influencing the aroma composition of Chardonnay wines / J.M. Gambetta, S.E. P. Bastian, D. Cozzolino, D.W. Jeffery // J. Agric. Food Chem. – 2014. – V.62. – 6512–6534.

170. Luchian, C.E. Innovative materials in winemaking / C.E. Luchian, C. Colibaba, M. Niculaua, M. Codreanu, V.V. Cotea // 38th World Congress of Vine and Wine. [электронный ресурс] режим доступа: http://www.bio_conferences.org/articles/bioconf/abs/2015/02/contents/contents.html_oiv_2015_02023.pdf

171. Robinson, A.L. Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts / A.L. Robinson, P.K. Boss, P.S. Solomon, R.D. Trengove, H. Heymann, S.E. Ebeler // Amer. J. Enol. and Vitic. – 2014. – V.65. – P.1–24.

172. Weldegergis, B.T. Solid phase extraction in combination with comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for the detailed investigation of volatiles in South African red wines / B.T. Weldegergis, A.M. Croucha, T. Górecki, A. de Villiers // Anal. Chim. Acta. – 2011. – V.701. – P.98–111.

173. Colibaba, L.C. Studies of phenolic and aromatic profile of Busuioaca de Bohotin wines / L.C. Colibaba, V.V. Cotea, F.G. Lacureanu, S. Tudose-Sandu-Ville, L. Rotaru, M. Niculaua, C. E. Luchian // 38th World Congress of Vine and Wine. [электронный ресурс] режим доступа: http://www.bio_conferences.org/articles/bioconf/abs/2015/02/contents/contents.html_oiv_2015_02008.pdf
174. Узун, Л.Н. Разработка и обоснование технологии производства вин и напитков с использованием электромагнитного воздействия / Л.Н. Узун. – автореф. дисс... канд. техн. наук. 05.18.01. – Краснодар, 2004. – 24 с.
175. Яшин, Я.И. Газовая хроматография / Я.И. Яшин, Е.Я. Яшин, А.Я. Яшин. – М.: Транслит, 2009. – 528 с.
176. Яшин, Я.И. Аналитическая хроматография. Методы, аппаратура, применение / Я.И. Яшин, А.Я. Яшин // Успехи химии. – 2006. – Т.75. – №4. – С.366–379.
177. Panighel, A. Applications of solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry (SPME-GC/MS) in the study of grape and wine volatile compounds / A. Panighel, R. Flamini // *Molecules*. 2014. V.19. P.21291–21309.
178. Sagratini, G. Comparative study of aroma profile and phenolic content of Montepulciano monovarietal red wines from the Marche and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME-GC-MS and HPLC-MS / G. Sagratini, F. Maggi, G. Caprioli, G. Cristalli, M. Ricciutelli, E. Torregiani, S. Vittori // *Food Chem.* – 2012. – V.132. – P.1592–1599.
179. Marais, J. Quantitative gas chromatographic determination of specific esters and high alcohol in wine using freon extraction / J. Marais, A.C. Houtman // *Amer. J. Enol. and Vitic.* – 1979. – V.30. – №3. – P.250–252.
180. Gallart, M. Determination of free fatty acids and their ethyl esters in musts and wines / M. Gallart, S. Francioli, E. Viu-Marco, E. Lopez-Tamames, S. Buxaderas // *J. of Chromatography*. – 1997. – V.776. – №2. – P.283–291.
181. Vaclavik, L. The use of high performance liquid chromatography quadrupole

time-of-flight mass spectrometry coupled to advanced data mining and chemometric tools for discrimination and classification of red wines according to their variety / L. Vaclavik, O. Lacina, J. Hajslova, J. Zeigenbaum // *Anal. Chim. Acta.* – 2011. – V.685. – Is.1. – P. 45–51.

182. Дейнека, В.И. Определение антоцианов методом ВЭЖХ. Некоторые закономерности удерживания / В.И. Дейнека, А.М. Григорьев // *Ж. аналит. химии.* – 2004. – Т.59. – №3. – С.305-309.

183. Kvasnicka, F. Capillary electrophoresis in food authenticity / F. Kvasnicka // *J. of Separation Science.* – 2005. – V.28. – P.813–825.

184. Sanchez-Palomo, E. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HSSPME coupled with GC–MS / E. Sanchez-Palomo, C. Diaz-Maroto // *Talanta.* – 2005. – V.66. – №5. – P. 1152–1157.

185. Noguerol-Pato, R. Aroma profile of Garnacha Tintorera-based sweet wine by chromatographic and sensorial analyses / R. Noguerol-Pato, M. González-Álvarez, C. González-Barreiro, B. Cancho-Grande, J. Sirmai-Gándara // *Food Chem.* – 2012. – V.134. – P.2313–2325.

186. Villén, J. Analysis of wine aroma by direct injection in gas chromatography without previous extraction / J. Villén, F.J. Señoráns, G. Reglero, M. Herraiz // *J. Agric. Food Chem.* – 1995. – V.43. – P. 717–722.

187. Torrens, J. Volatile compounds of red and white wines by headspace–solid-phase microextraction using different fibers / J. Torrens, M. Riu-Aumatell, E. López-Tamames, S. Buxaderas // *J. of Chromatographic Science.* – 2004. – V.42. – P.71-77.

188. Chin, S.-T. Cumulative solid phase microextraction. Sampling for gas chromatography of lactometry of Shiraz wines / S.-T. Chin, G.T. Eyres, P.J. Marriots // *J. Chromatogr. A.* – 2012. – V.1255. – P. 221–227.

189. Mayr, C.M. Characterization of the key aroma compounds in Shiraz wine by quantitation, aroma reconstitution, and omission studies / C.M. Mayr, J.P. Geue, H.E. Holt, W.P. Pearson, D.W. Jeffery, I.L. Francis // *J. Agric. Food Chem.* – 2014. – V.62. – P.4528–4536.

190. Heaven, M.W. Recent analyses using solid phase microextraction in

industries related to food made into or from liquids / M.W. Heaven, D. Nash // *Food Control*. – 2012. – V.27. – P.214–227.

191. Гугучкина, Т.И. Агроэкологическая и технологическая стратегия использования винограда для производства высококачественных вин: дис. ... д-ра с.-хоз. наук: 06.01.07, 05.18.01. / Т.И. Гугучкина. – Краснодар, 2002. – 404 с.

192. Агеева, Н.М. Физико-химические и биотехнологические основы повышения качества и устойчивости вин к помутнениям: дис... д-ра техн. наук: 05.18.01. / Н.М. Агеева. – Краснодар, 2001. – 401 с.

193. Христюк, В.Т. Теоретическое обоснование и разработка инновационных технологий производства вин и напитков с использованием физико-химических технологических приемов: дис... д-ра техн. наук: 05.18.01. / В.Т. Христюк. – Краснодар, 2013. – 47 с.

194. Sorrentinoa, A. Characterization of free volatile compounds in fiano wine produced by different selected autochthonous yeasts / A. Sorrentinoa, F. Boscainoa, R. Cozzolinoa, M.G. Volpea, E. Ionatab, S. Guerrieroc, T. Picariello, F. La Carab // *Chemical Engineering transactions*. – 2013. – V.32. – P.1837–1842.

195. Schovic, D. Glycerol and wine industry. Glycerol determination in grape must and wine / D. Schovic, V. Petravik, V. Marik // *Chem. Ind.* – 2004. – V.53. – P.505–516.

196. Fernandes, L. Different multidimensional chromatographic approaches applied to the study of wine malolactic fermentation / L. Fernandes, A.M. Relva, M.D.R. Gomes da Silva, A.M. Costa Freitas // *J. of Chromatogr. A*. – 2003. – V.995. – P.161–169.

197. Pickering, G. J. Effect of closure, packaging and storage conditions on impact odorants of wine / G. J. Pickering, A. Blake, Y. Kotseridi // *Czech. J. Food Science*. – 2009. – V.27. – Sp. Issue. – P.62–65.

198. Benito, S. Identifying yeasts belonging to the *Brettanomyces/Dekkera* genera through the use of selective-differential media / S. Benito, F. Palomero, A. Morata, F. Calderon, D. Palmero, J.A. Soares-Lepe // *African J. Microbial Res.* – 2012. – V.34. – P.6348–6357.

199. Wada, K. Isolation and identification of volatile compounds from a wine using solid phase extraction, gas chromatography, and gas chromatography/mass spectrometry / K. Wada, T. Shibamoto // *J. Agric. Food Chem.* – 1997. – V.45. – P.4362–4366.

200. Angioni, A. Determination of wine aroma compounds by degidration followed by GC/MS / A. Angioni, G.M. Pintore, P. Caboni // *J. AOAC Int.* – 2012. – V.95. – №3. – P.813–819.

201. Dawidowicz, A.L. Fast determination of α - and β -thujone in alcoholic beverages using solid-phase extraction and gas chromatography / A.L. Dawidowicz, M.P. Dybowski // *Food Control.* – 2012. – V.25. – P.197–201.

202. Wen, G.M. An ethanol biosensor based on a bacterial cell-immobilized eggshell membrane / G.M. Wen, S.M. Shuang, C. Chuan, M.F. Martin // *Chin. Chem. Lett.* – 2012. – V.4. – P.481–483.

203. Муратшин, А.М. Идентификация примесей в этаноле / А.М. Муратшин, В.Я. Белобрагин, С.А. Карповская // *Башкирский химический журнал.* – 1998. – Т.5. – №2. – С.56–58.

204. Савчук, С.А. Применение хроматографии и спектрометрии для идентификации подлинности спиртных напитков / С.А. Савчук // *Журнал аналитической химии.* – 2001. – Т.56. – №3. – С.246–264.

205. Charapitsa, S.V. Direct determination of volatile compounds in spirit drinks by gas chromatography / S.V. Charapitsa, A.N. Kavalenka, N.V. Kulevich, N.N. Makoed, A.L. Mazanik, S.N. Sytova, N.I. Zayats, Y.N. Kotov // *J. Agric. Food Chem.* – 2013. – V.61. – №12. – P.2950–2956.

206. ГОСТ Р 51822-2001 Вина и виноматериалы. Газохроматографический метод определения объемной доли этилового спирта, массовой концентрации уксусной и пропионовой кислот. М.: Стандартинформ, 2001. – 22 с.

207. Zapata, J. Automated and quantitative headspace in-tube extraction for the accurate determination of highly volatile compounds from wines and beers / J. Zapata, L. Mateo-Vivaracho, R. Lopez, V. Ferreira // *Journal of Chromatography A.* – 2012. – V.1230. – P.1–7.

208. Lopez-Vazquez, C. Determination of aldehydes as pentafluorobenzyl derivatives in grape pomace distillates by HS-SPME-GC/MS / C. Lopez-Vazquez, I. Orriols, M.C. Perello, G. de Revel // *Food Chemistry*. –2012. –V.130.– P.1127–1133.

209. Welke, J.E. Characterization of the volatile profile of Brazilian Merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection / J.E. Welke, V. Manfroib, M. Zanusc, M. Lazarottoc, C.A. Zini // *J. Chromatogr. A*. – 2012. – V.1226. – P.124–139.

210. Сычев, К.С. Практическое руководство по жидкостной хроматографии / К.С. Сычев. – М.: Техносфера, 2010. – 272 с.

211. Mato, I. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines / I. Mato, S. Suarez-Luque, J.F. Huidobro // *Food Research International*. – 2005. – V.38. – P.1175–1188.

212. Valente, I. Application of gas-diffusion microextraction for high performance liquid chromatographic analysis of aliphatic amines in fermented beverages / I. Valente, C.M. Santo, L.M. Goncalvez, J.A. Rodriguez, A.A. Barros // *Anal. Methods*. – 2012. – V.4. – P. 2569–2573.

213. Pineda, A. Preliminary evaluation of biogenic amines content in Chilean young varietal wines by HPLC / A. Pineda, J. Carrasco, C. Pena-Farfal, K. Henriquez-Aedo, M. Aranda // *Food Control*. – 2012. – V.23. – P.251–257.

214. Bach, B. Validation of a method for the analysis of biogenic amines: Histamine instability during wine sample storage / B. Bach, S. Le Quere, P. Vuchot, M. Grinbaum, L. Barnavon // *Anal. Chim. Acta*. – 2012. – V.732. – P.114–119.

215. Perestrelo, R. Phenolic profile of Sersiale and Tinta Negra Vitis Vinifera grape skins by HPLC DAD ESI MS. Novel phenolic compounds in Vitis Vinifera / R. Perestrelo, Y. Lu, S.A.O. Santos, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, J.S. Camara, S.M. Rocha // *Food Chem*. – 2012. – V.135. – P.94–104.

216. Glod, B.K. Evaluation of total antioxidant potential of selected biogenic polyamines non-alcoholic drinks and alcoholic beverages using improved RP-HPLC assay including fluorescence detection / B.K. Glod, P. Piszcz, J. Czajka, P. Zarzycki // *Food Chem*. – 2012. – V.131. – P.1026–1029.

217. Glod, B.K. RP-HPCL with fluorescence detection, assay for the determination of total antioxidant potential (TAP) / B.K. Glod, P. Piszcz, P. Zarzycki, K.J. Pawel // *Liq. Chrom. Relat. Technol.* – 2012. – V.35. – P.1194–1201.

218. Quiros, M. A simple method for total quantification of manno-protein content on real wine samples / M. Quiros, R. Gonzalez, P. Morales // *Food Chem.* – 2012. – V.134. – P.1205–1210.

219. Amelin, V.G. Determination of organic acids in alcoholic and nonalcoholic beverages by reversed phase high performance liquid chromatography / V.G. Amelin, I.V. Podgolzin, A.V. Tretiakov // *J. Anal. Chem.* – 2012. – V.67. – P.262–268.

220. Figueirado-Gonzalez, M. Anthocyanins and flavonols from *Vitis Vinifera* L cv. Brancellao separately collected from two different positions within the cluster / M. Figueirado-Gonzalez, J. Simal-Gandara, S. Boso, M.C. Martinez, J.L. Santiago, B. Cancho-Grande // *Food Chem.* – 2012. – V.135. – P.47–56.

221. Meng, J.F. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultural of spine grape (*Vitis Vinifera* Foex) in Chongyi County (China) / J.F. Meng, Y-L. Fang, M.-Y. Qin, X.F. Zhuang, Z.-W. Zhang // *Food Chem.* – 2012. V.134. P.2049–2056.

222. Costa, C.T. Analysis of anthocyanin in foods liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis / C.T. Costa, D. Horton, S.A. Margolis // *J. of Chromatography A.* – 2000. – V.881. – P.403–410.

223. Guidoni, S. Anthocyanin profile in berry skin and fermenting must/wine, as affected by grape ripeness level of *Vitis vinifera* cv / S. Guidoni, J. Hunter // *J. Eur. Food. Res. Technol.* – 2012. – V.235. – P.397–408.

224. Rustioni, L. Copigmentation and anti-copigmentation in grape extracts studied by spectrophotometry and post-column-reaction HPLC / L. Rustioni, D.R. Bedgood, O. Failla, P.D. Prenzler, K. Robards // *Food Chem.* – 2012. – V.132. – P.2194–2201.

225. Esti, M.B. Monitoring of ochratoxin A fate during alcoholic fermentation of wine-must / M.B. Esti, K. Liburdi, G. Acciario // *Food Control.* – 2012. – V.127. – P.53–56.

226. Chatonnet, P. Identification and responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine / P. Chatonnet, S. Bonnet, S. Boutou, M.-D. Labadie // *J. Agric. Food Chem.* – 2004. – V.52. – P.1255–1262.

227. Serrano-Lourido, D. Classification and characterization of Spanish red wines according to their appellation of origin based on chromatographic profiles and chemometric data analysis / D. Serrano-Lourid, J. Saurine, S. Hernández-Cassou, A. Chcca // *Food Chem.* – 2012. – V.135. – P.1425–1431.

228. Беленький, Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез / Б.Г. Беленький. – Санкт-Петербург: Наука, 2009. – 320 с.

229. Проблемы аналитической химии / Научный совет по аналитической химии ОХИМ РАН. М.: Наука, 1970 – Т.18 : Капиллярный электрофорез / под редакцией Л.А. Карцовой. – 2014. – 444с.

230. Комиссарчик, С.М. Пищевые синтетические красители в винах (их выявление) / С.М. Комиссарчик, Г.Г. Няшкова, Л.А. Карцова, А.В. Алексеева // *Виноделие и виноградарство.* – 2007. – №6. – С.10–21.

231. ГОСТ Р 53971-2010 Продукция винодельческая. Определение массовой концентрации пестицидов группы триазолов методом капиллярного электрофореза в сочетании с твердофазной экстракцией. – М.: Стандартинформ, 2012. – 10 с.

232. ГОСТ Р 52930-2008 Водки, водки особые и вода для их приготовления. Определение массовой концентрации катионов, аминов, анионов неорганических и органических кислот методом капиллярного электрофореза. – М.: Стандартинформ, 2008. – 18 с.

233. Feng-Jie, L. Simultaneous separation and determination of five organic acids in beverages and fruits by capillary electrophoresis using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as pseudostationary phase / L. Feng-Jie, D. Guo-Sheng, A.-N. Tang // *Food chem.* – 2014. – V.145. – P.109–114.

234. Pesek, J.J. Etched chemically modified capillaries: Novel separation media for electrophoretic analyses / J.J. Pesek, M.T. Matyska // *J. Sep. Sci.* – 2004. – V.27. – P.1285.

235. Manaenkov, O.V. Rapid determination of amino acids by capillary electrophoresis without preliminary derivatization / O.V. Manaenkov, A.I. Sidorov, E.M. Shul'man // *J. Anal. Chem.* – 2003. – V.58. – №10. – P.979–982.

236. Zahou, E. Amino acid analysis by capillary electrophoresis after phenylthiocarbamylation / E. Zahou, H. Jornvall, T. Bergman // *Analyt. biochem.* – 2000. – V.281. – P.115–122.

237. Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» / Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев. – ООО «Веда», Санкт-Петербург, 2006. – С.44.

238. Salaün, M. Rapid analysis of organic and amino acids by capillary electrophoresis: application to glutamine and arginine contents in an ornamental shrub / M. Salaün, S. Charpentier // *J. Plant Physiol.* – 2001. – V.158. – P.1381–1386.

239. Способ определения органических кислот в безалкогольных и алкогольных напитках методом капиллярного электрофореза : Пат. 2327978 Рос. Федерация : G01N33 /14 / В.Г. Адамсон, Н.В. Комарова ; заявитель и патентообладатель ООО Винтел. – № 2007132860 ; заявл. 24.08.2007; опубл. 27.03.2009, Бюл. №9. 6с.

240. Hakansson, A.E. Structures and colour properties of new red wine pigments / A.E. Hakansson, K. Pardon, Y. Hayasaka, M. de Sa, M. Herderich // *Tetrahedron Lett.* – 2003. – V.44. – P.4887.

241. Qin, W. 1,3-Dialkylimidazolium-based room temperature ionic liquids as background electrolyte and coating materials in aqueous capillary electrophoresis / W. Qin, H. Wei, S.F. Yau Li // *J. Chromatogr. A.* – 2003. – V.985. – P.447.

242. Малинкин, А.Д. Определение состава основных катионов в соках и нектарах методом капиллярного зонального электрофореза / А.Д. Малинкин, В.В. Бессонов, А.А. Шумакова, Е.А. Арианова, В.И. Прокофьева // *Вопросы питания.* – 2014. – Т.83. – №1. – С.74–79.

243. Rodrigues-Delgado, M.A. Fast analysis of proteins in wines by capillary gel electrophoresis / M.A. Rodrigues-Delgado, S. Malovana, F.J. Montelongo, A. Cifuentes // *Eur. Food Res. Technol.* – 2000. – P.536–540.

244. Baryla, N.E. Semi-permanent surfactant coatings for inorganic anion analysis in capillary electrophoresis / N.E. Baryla, Ch.A. Lucy // *J. Chromatogr. A.* – 2002. – V.956. – P.271–277.

245. Ruiz-Jimenez, J. On-line pervaporation-capillary electrophoresis for the determination of flying acidity and free sulfur dioxide in wines / J. Ruiz-Jimenez, M.D. Luque de Castro // *Electrophoresis.* – 2005. – V.26. – P. 2231–2238.

246. Pazourek, J. Separation of polyphenols in Canary islands wines by capillary electrophoresis without preconcentration / J. Pazourek, G. Gonzales, A.L. Revilla, J. Havel // *J. Chromatogr. A.* – 2000. – V.874. – P.111.

247. Perez, R.G. Multivariant optimization, validation, and application of capillary electrophoresis for simultaneous determination of polyphenols and phenolic acids in Brazilian wines / R.G. Perez, G.A. Micke, M. Tavares, D.B. Rodriguez-Amaya // *J. Sep. Sci.* – 2009. – V.32. – P. 3822–3828.

248. O'Flanerty, B. Near-real time detection of impurities in sugar and wine samples: a novel approach / B. O'Flanerty, W.P. Yang, S. Sengupta, A.L. Cholli // *Reims, Ass. AVH 7 Symposium, 2000.* – P. 22.

249. Rovio, S. Determination of monosaccharide composition in plant fiber materials by capillary zone electrophoresis / S. Rovio, H. Simolin, K. Koljonen, H. Sirén // *J. Chromatogr. A.* – 2008. – V.1185. – P.139–144.

250. Bazanella, A. Separation and direct UV-detection of sugars by capillary electrophoresis using chelation of copper (II) / A. Bazanella, K. Bachmann // *J. Chromatogr. A.* – 1998. – V.799. – P.283–288.

251. Campa, C. Capillary electrophoresis of sugar acids / C. Campa, E. Baiutti, A. Flamingi // *Methods in Molecular Biology.* – 2008. – V.384. – P.307–355.

252. Lu, B. Capillary electrophoresis of sugar with complexon / B. Lu, D. Westerlund // *Electrophoresis.* – 1996. – V.17. – P.325.

253. Lee, Y. Analysis of sugar by capillary electrophoresis / Y. Lee, T.-I. Lin // *J. Chromatogr. B.* – 1996. – V.681. – P.87.

254. Klockow, A. Determination of carbohydrates in fruit juices by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography / A. Klockow, A. Paulus,

V. Figueris, R. Amado, H.M. Widmer // *J. Chromatography A*. – 1994. – V.680. – Iss.1. – P.187–200.

255. Hoffstetter-Kuhn, S. Determination of sugar by capillary electrophoresis / S. Hoffstetter-Kuhn, A. Puulus, E. Gassman, H.M. Widmer // *Anal. Chem.* – 1991. – V.63. – P.1541–1550.

256. Sogaa, T. Determination of carbohydrates in food by capillary electrophoresis with indirect UV detection / T. Sogaa, M. Scrweb // *Food chem.* – 1997. – V.69. – Iss.3. – P.339–344.

257. Rassi, Z. Recent developments in capillary electrophoresis of carbohydrates / Z. Rassi // *Electrophoresis*. – 1997. – V.18. – №12–13. – P.2400–2407.

258. Suzuki, Sh. A tabulated review of capillary electrophoresis of carbohydrates / Sh. Suzuki, S. Honda // *Electrophoresis*. – 1998. – V.19. – № 15. – P.2539–2560.

259. Алексеева, А.В. Определение сахаров методом лигандообменного капиллярного электрофореза / А.В. Алексеева, Л.А. Карцова, Н.В. Казачищева // *Журн. аналит. хим.* – 2010. – Т. 65. – №2. – P.205–211.

260. Межеричский, В.В. Ортоэфиры в органическом синтезе / В.В. Межеричский, Е.П. Олехнович, С.М. Лукьянов, Г.М. Дорофеев.- Издательство Ростовского университета, 1976. – 176с.

261. ГОСТ 5964-93 Спирт этиловый. Правила приемки и методы испытаний. – М.: Стандартинформ, 1993. – 15с.

262. Валуйко, Г.Г. Технология виноградных вин / Г.Г. Валуйко. – Симферополь: Таврида, 2001. – 624с.

263. Кишковский, З.Н. Технология вина / З.Н. Кишковский, А.А. Мержаниан. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1984.- 594с.

264. Родопуло, А.К. Химия и биохимия коньячного производства / А.К. Родопуло, И.А. Егоров. - М.: Агропромиздат, 1988. – 194с.

265. Агеева, Н.М. Исследование летучих примесей винных дистиллятов / Н.М. Агеева, Ю.Ф. Якуба, Т.И. Гугучкина, Л.Н. Тюпюнник, П.И. Тычина // *Виноград и вино России* .- 2000.- Спецвыпуск.- С.64.

266. Халафян, А.А. STATISTICA 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей / А.А. Халафян. - М.: Бином, 2010. - 491 с.
267. Директива ЕС №1234/2007 методы OIV
268. Méthode OIV-MA-AS314-03 : R2015
269. Якуба, Ю.Ф. Виноградные вина, проблемы оценки их качества и региональной принадлежности / Ю.Ф. Якуба, А.А. Каунова, З.А. Темердашев, В.О. Титаренко, А.А. Халафян // Аналитика и контроль. - 2014. - Т.18. - №4. - С. 344 - 373.
270. Филатов, О.К. Идентификация спиртосодержащей продукции / О.К. Филатов, А.В. Воробьева, Н.А. Краснова, А.М. Муратшин, В.С. Шмаков // Пищ. пром-сть. - 2005. - №8. - С.48-49.
271. Кушнерева, Е.В. Разработка критериев подлинности природно-полусладких и природно-полусухих вин / Е.В. Кушнерева, Т.И. Гугучкина // Изв. ВУЗов. Пищевая технология. 2012. №5 6. С.70 72.
272. Агеева, Н.М. Еще раз о фальсификации виноградных вин / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина, М.Г. Марковский // Виноделие и виноградарство. - 2002. №4. С.22 23.
273. Панасюк, А.Л. Критерии качества белых вин Нового Света / А.Л. Панасюк, М.И. Бабаева // Виноделие и виноградарство. - 2013. - №5. - С.22-24.
274. Валгина, Л.В. Идентификация винодельческой продукции / Л.В. Валгина, В.В. Жирова, Е.А. Смирнова // Виноделие и виноградарство. - 2010. - №1. - С.10-11.
275. Дергунов, А.В. Влияние биохимического состава виноматериалов из белых перспективных сортов винограда на качество винодельческой продукции / А.В. Дергунов, С.А. Лопин, О.И. Ильяшенко // Виноделие и виноградарство. - 2012. - №4. - С.22-25.
276. Moreno-Arribas, M.V. Wine chemistry and biochemistry / M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo. - Shringier. New York, 2009. - 728 p.

277. Якуба, Ю.Ф. Прямое определение основных аминокислот вина / Ю.Ф. Якуба // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2010. – Т.76. – №4. – С.12–14.

278. Якуба, Ю.Ф. Прямое определение фенилаланина, триптофана и тирозина в винах / Ю.Ф. Якуба // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т.74. – №2. – С.15–18.

279. Ribereau-Gayon, P. Handbook of Enology / Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu D., Doneyche B., Lonvaud A. / Vol. 2. West Sussex, England. John Wiley & Sons Ltd, 2006. – 438 p.

280. Аникина, Н.С. Научные основы идентификации подлинности виноградных виноматериалов и вин. / Н.С. Аникина. - Автореф... дис. докт. тех. наук. Ялта, 2014. – 38 с.

281. Toci, A. T. Free and bound aroma compounds characterization by GC-MS of Negroamaro wine as affected by soil management / A.T. Toci, P. Crupi, G. Gambacorta, T. Dipalmo, D. Antonacci, A. Coletta // J. Mass Spectr. – 2012. – V.47. – P.1104–1112.

282. Способ обработки садовых деревьев и винограда для защиты от низких температур и весенних заморозков : Пат. 2522522 Рос. Федерация : А01 G7 /06 / Ю.Ф. Якуба ; заявитель и патентообладатель ГНУ СКЗНИИСиВ. – №2013115317 ; заявл. 9.04.2013 ; опубл. 20.07.14, Бюл. № 20. – 7с.

283. Якуба, Ю.Ф. Предпазване на многогодишни растения в зимни условия / Ю.Ф. Якуба // Лозарство и винарство. – 2013. – №6. – С.6–9.

284. Воробьева, Т.Н. Влияние на органичного торене върху качеството на десертното грозде / Т.Н. Воробьева, Ю.Ф. Якуба // Лозарство и винарство. – 2015. – №4. – С.27–31.

285. ГОСТ 31763-2012 Спирт винный. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 6 с.

286. ГОСТ 55461-2013 Спирт виноградный. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 6 с.

287. ГОСТ Р 55459-2013 Дистиллят виноградный. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 6 с.

288. ГОСТ 32160-2013 Дистиллят фруктовый (плодовый). Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 6 с.

289. ГОСТ 31493-2012 Дистиллят винный. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 4 с.

290. Wang, M.-L. A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography / M.-L. Wang, Y.-M. Choong, N.-W. Su, M.-H. Lee // J. Food and Drug Analysis. – 2003. – Vol.11. – P.133–140.

291. Якуба, Ю.Ф. Совершенствование аналитического контроля винодельческой продукции / Ю.Ф. Якуба, М.С. Ложникова // Аналитика и контроль. – 2011. – Т. 15. – № 3. – С. 309-312

292. Якуба, Ю.Ф. Применение капиллярного электрофореза для определения катионов в винах специальных технологий / Ю.Ф. Якуба // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2006. – Т.72. – №4. – С.11-15.

293. Попова, О.В. Применение метода капиллярного электрофореза для исследования комплексов меди и железа с некоторыми органическими лигандами и супрамолекулярных комплексов производных бетулина с б-циклодекстрином: автореф. дис... канд хим. наук: 02.00.04. / О.В. Попова.- Красноярск, 2015. – 19 с.

294. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству.- Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2010. – 410с.

295. Способ определения общего азота методом капиллярного электрофореза : Пат. № 2554799 Рос. Федерация : G01N33 /02 G01N27 /26 / Ю.Ф. Якуба, М.В. Филимонов, Я.В. Ушакова ; заявитель и патентообладатель ФГБНУ СКЗНИИСиВ. – № 2013149504 ; заявл. 6.11.2013 ; опубл. 27.06.15, Бюл. №18. – 8с.

296. ГОСТ Р 52181-2003 Вода питьевая. Определение содержания анионов методами ионной хроматографии и капиллярного электрофореза. М., 2003. – 21с.

297. Агеева, Н.М. Определение содержания основных неорганических анионов в винопродукции методом капиллярного электрофореза / Н.М. Агеева, М.Г. Марковский, Ю.Ф. Якуба // Изв. ВУЗов. Пищевая технология. – 2003. – №2-3. – С. 41-42.

298. Якуба, Ю.Ф. Электрофоретическое определение хлорида, сульфата, нитрата, нитрита в винах / Ю.Ф. Якуба, М.Г. Марковский // Аналитика и контроль. – 2011. – Т.15. – С.305-308.

299. Способ определения общего фосфора методом капиллярного электрофореза : Пат. 2499989 Рос. Федерация : G01N27 /26 / Ю.Ф. Якуба, М.В. Филимопов, М.В. Захарова, Т.Г. Фоменко ; заявитель и патентообладатель ГНУ СКЗНИИСиВ. – №2012148514 ; заявл. 14.11.2012 ; опубл. 27.11.2013, Бюл. 33. – 8с.

300. Solomon, G.E. Psychology of novice and expert wine talk / G.E. Solomon // Amer. J. Psychol. – 1990. – V.73. – P.495-517.

301. Валуйко, Г.Г. Теория и практика дегустации вина / Г.Г. Валуйко, Е.П. Шольц-Куликов. – Симферополь: Таврида, 2005. – 232 с.

302. Юсупов, М.Ю. Инновационные технологии в курортном деле и медицинской профилактике. Выпуск 1, часть 2. / М.Ю. Юсупов, М.В. Никитин, В.Д. Останишин, И.И. Павлюченко, А.Я. Полевая, И.В. Писаренко, Т.Л. Троянова, Д.Б. Щербаков, Р.И. Шаззо, В.В. Шевчук, Ю.Ф. Якуба. – Краснодар: ООО «Издательско-полиграфический комплекс», 2010. –136с.

303. Белякова, Е.А. Влияние агротехнических приемов на содержание биологически активных веществ в красных сортах винограда и вина : автореф. дис... канд. с.-х. наук: 06.01.07. / Е.А. Белякова.- Краснодар, 2007. – 24 с.

304. Jackson, R.S. Wine science. Principles and application / R.S. Jackson. – A.P., 2008. – 789 p.

305. Способ определения глюкозы, сахарозы, фруктозы : Пат 2492458 Рос. Федерация : G01N27 /26 G01N33 /02 / Ю.Ф. Якуба, П.И. Ненько, М.В. Филимопов, В.В. Шестакова, М.В. Захарова ; заявитель и патентообладатель ГНУ СКЗНИИСиВ. – № 2012112496 ; заявл. 30.03.2012 ; опубл. 10.09.2013, Бюл. № 25. – 9с.

306. Якуба, Ю.Ф. Определение глюкозы, сахарозы и фруктозы методом капиллярного электрофореза / Ю.Ф. Якуба, М.Г. Марковский // Вопросы питания. – 2015. – Т.84. – №1. – С.87-91.

307. Гугучкина, Т.И. Последние достижения в области капиллярного электрофореза для анализа винодельческой продукции / Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева, Ю.Ф. Якуба // *Виноделие и виноградарство*. – 2005. – №6. – С. 21.

308. Способ определения качества виноградного вина : Пат. 2310192 Рос. Федерация : G01N33 /14 / Ю.Ф. Якуба, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева, Л.М. Лопатина, Л.В. Лунина ; заявитель и патентообладатель Л.В. Лунина. – № 2005130462/13 ; заявл. 30.09.2005 ; опубл. 10.11.2007, Бюл. № 31. – 5с.

309. ГОСТ Р 51432-99 Соки фруктовые и овощные. Метод определения содержания золы. М.: Стандартинформ, 2002. – 8с.

310. Козуб, Г.И. Изменение компонентов химического состава хереса при его выдержке / Г.И. Козуб, З.А. Мамакова, Е.А. Скорбанова, А.С. Максимова // *Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии*. 1982. № 1. С. 33-36.

311. Способ установления натуральности вина : Пат. 2156976 Рос. Федерация : G01N33 /14 / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина, Ю.Ф. Якуба ; заявитель и патентообладатель ГНУ СКЗНИИСиВ. – № 98121220/13 ; заявл. 30.11.1998 ; опубл. 27.09.2000, Бюл. №27. – 6с.

312. Дуборасова, Т.Ю. Сенсорный анализ продуктов. Дегустация вина / Т.Ю. Дуборасова. – М.: ИТК «Дашков и К», 2009. – 184с.

313. Бурова, Т.Е. Оценка сенсорной чувствительности дегустаторов / Т.Е. Бурова. – С.-Петербург: НИУ ИТМО, ИЧиБТ, 2014. – 42с.

314. Huidobro, M.F. Rapid capillary zone electrophoresis method for the determination of metal cations in beverages / M.F. Huidobro, J. Simal-Lozano // *Talanta*. – 2006. – V. 68. – P.1143–1147.

315. Якуба, Ю.Ф. Вкусовая оценка качества виноградных вин с использованием методов математической статистики / Ю.Ф. Якуба, З.А. Темердашев, А.А. Халафян // *Вопросы питания*. – 2016. – Т.85. – № 5. – С. 25-27.

316. Якуба, Ю.Ф. Аналитика и технологии виноградных дистиллятов / Ю.Ф. Якуба. – М.: Изд. Московского университета, 2013. – 168 с.

317. Грунская, Е.П. Реакции каталитического окисления фурановых и гидрофурановых соединений / Е.П. Грунская, Л.А. Бадовская, В.В. Посконин, Ю.Ф. Якуба // *Химия гетероциклических соединений*. – 1998. – №7. – С.898–903.

318. Jackson, R.S. Wine science. Principles and application / R.S. Jackson. – A.P., 2008. – 789 p.

319. Якуба, Ю.Ф. Органолептическая оценка качества виноградных вин с использованием методов статистического моделирования / Ю.Ф. Якуба, З.А. Темердашев, А.А. Халафян // *Аналитика и контроль*. – 2014. – Т.18. – №4. – С. 385 – 392.

320. Якуба, Ю.Ф. Применение классификационного анализа для оценки качества вин в номинальной шкале / Ю.Ф. Якуба, З.А. Темердашев, А.А. Халафян // *Журнал аналитической химии*. – 2016 – Т. 71. – № 2. – С. 212-222.

321. Халафян, А.А. Применение методов таблицы сопряженности и анализа соответствий для сравнительной оценки качества вин в номинальной шкале / А.А. Халафян, Ю.Ф. Якуба, З.А. Темердашев // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2016. – Т. 82. – № 2. – С.66-71.

322. Khalfyan, A.A. Statistical-Probability Simulation of Organoleptic Properties of Grape Wines/ A.A. Khalfyan, Yu.F. Yakuba, Z.A. Temerdashev, A.A. Kaunova, V.O. Titarenko // *J.Analytical Chemistry*. - 2016 – Vol. 71. – № 11. – P. 1138-1144.

323. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2015612091 Классификационный анализ качества вин / А.А. Халафян, З.А. Темердашев, А.В. Каневцов, Ю.Ф. Якуба / Правообладатель ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет». – № 2014663346 ; заявл. 18.12.2014 ; зарегистр. 11.02.2015.

324. Якуба, Ю.Ф. Позиционный анализ как метод оценки согласованности экспертных оценок / Ю.Ф. Якуба, Темердашев З.А., Халафян А.А., Т.И. Гугучкина, М.В. Антоненко // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2015.- Т.81 - №12.- С. 69-78.

325. Халафян, А.А. Использование многомерного анализа для итоговой оценки результатов экспертных оценок / А.А. Халафян, Ю.Ф. Якуба, З.А.

Темердашев, Т.И. Гугучкина // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2016. – Т. 82. – № 10. – С. 66-71.

326. Халафян, А.А. Использование модели логит-регрессии для идентификации фальсификатов вин / А.А. Халафян, Ю.Ф. Якуба, З.А. Темердашев // Аналитика и контроль. – 2016. – Т.20. – № 1. – С.47-52.

327. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016618124 Идентификатор образцов вин / А.А. Халафян, З.А. Темердашев, Ю.Ф. Якуба, А.В. Кансцов / Правообладатель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет». – № 2016615569, зарегистрирован 21.07.2016 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ А-1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ДИСТИЛЛЯТ ВИННЫЙ

Технические условия

Издание официальное

БЗ 10—98/976

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Всероссийским научно-исследовательским институтом пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности (ВНИИ ПБ и ВП), Техническим комитетом по стандартизации ТК 91 «Пивобезалкогольная и винодельческая продукция», Департаментом пищевой и перерабатывающей промышленности Минсельхозпрода РФ и Рабочей группой, образованной в соответствии с распоряжением Госстандарта России от 17 сентября 1997 г. № 96

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 27 июля 1999 г. № 218-ст

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© ИПК Издательство стандартов, 1999

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

II

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Определения	2
4 Технические требования	2
4.1 Характеристики	2
4.2 Требования к сырью и материалам	2
4.3 Упаковка	3
4.4 Маркировка	3
5 Правила приемки	3
6 Методы контроля	3
7 Транспортирование и хранение	3
Приложение А Библиография	4

к ГОСТ Р 51298—99 Дистиллят винный. Технические условия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2	ГОСТ 14351—73 Вина, виноматериалы и коньячные спирты. Метод определения свободной и общей сернистой кислоты	ГОСТ Р 51655—2000 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации свободного и общего диоксида серы
Пункт 4.1.3. Таблица 2	Массовая концентрация общей сернистой кислоты, мг/дм ³ , не более	Массовая концентрация общего диоксида серы, мг/дм ³ , не более
Пункт 6.2	ГОСТ 14351	ГОСТ Р 51655

(ИУС № 9 2001 г.)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**ДИСТИЛЛЯТ ВИННЫЙ****Технические условия**Wine distillate.
Specifications

Дата введения 2000—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на винный дистиллят, предназначенный для производства винодельческой продукции.

Требования безопасности продукта изложены в 4.1.4, 4.1.5, упаковки в 4.3, маркировки в 4.4 являются обязательными.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ 7208—93 Вина виноградные и виноматериалы виноградные обработанные. Общие технические условия
- ГОСТ 9218—86 Цистерны для пищевых жидкостей, устанавливаемые на автотранспортные средства. Общие технические условия
- ГОСТ 12280—75 Вина и виноматериалы, коньячные и плодовые спирты. Метод определения альдегидов
- ГОСТ 13191—73 Вина, виноматериалы, коньяки и коньячные спирты, соки плодово-ягодные спиртованные. Метод определения этилового спирта
- ГОСТ 13193—73 Вина, виноматериалы и коньячные спирты. Соки плодово-ягодные спиртованные. Методы определения летучих кислот
- ГОСТ 13194—74 Коньяки и коньячные спирты. Метод определения метилового спирта
- ГОСТ 13195—73 Вина, виноматериалы, коньяки и коньячные спирты, соки плодово-ягодные спиртованные. Метод определения железа
- ГОСТ 14136—75 Вина и виноматериалы, коньяки и коньячные спирты, соки плодово-ягодные спиртованные. Метод определения относительной плотности
- ГОСТ 14138—76 Коньячные и плодовые спирты. Метод определения высших спиртов
- ГОСТ 14139—76 Коньячные и плодовые спирты. Методы определения средних эфиров
- ГОСТ 14192—96 Маркировка грузов
- ГОСТ 14351—73 Вина, виноматериалы и коньячные спирты. Метод определения свободной и общей сернистой кислоты
- ГОСТ 14352—73 Коньячные спирты. Метод определения фурфурола
- ГОСТ 26927—86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения ртути
- ГОСТ 26929—96 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов
- ГОСТ 26930—86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка
- ГОСТ 26932—86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца
- ГОСТ 26933—86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия

Издание официальное

1

ГОСТ Р 51144—98 Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 51157—98 Вина виноградные оригинальные и виноматериалы виноградные оригинальные обработанные. Общие технические условия

3 Определения

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением.

винный дистиллят: Продукт, полученный путем перегонки виноградных виноматериалов.

4 Технические требования

4.1 Характеристики

4.1.1 Винный дистиллят должен быть приготовлен в соответствии с требованиями настоящего стандарта с соблюдением действующих санитарных норм и правил по технологической инструкции, утвержденной в установленном порядке.

4.1.2 Винный дистиллят по органолептическим показателям должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика винного дистиллята
Внешний вид	Бесцветная, прозрачная жидкость без осадка и посторонних включений
Аромат	Сложный, с выраженными винными тонами
Вкус	Чистый, жгучий, винный.

4.1.3 Винный дистиллят по химическим показателям должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 2.

Таблица 2

Наименование показателя	Норма
Объемная доля этилового спирта, %	60,0—92,0
Массовая концентрация высших спиртов в пересчете на изовамиловый спирт, мг/100 см ³ безводного спирта	160—450
Массовая концентрация альдегидов в пересчете на уксусный альдегид, мг/100 см ³ безводного спирта	3—35
Массовая концентрация средних эфиров в пересчете на уксусно-этиловый эфир, мг/100 см ³ безводного спирта	30—200
Массовая концентрация летучих кислот в пересчете на уксусную кислоту, мг/100 см ³ безводного спирта, не более	80
Массовая концентрация фурфурола, мг/100 см ³ безводного спирта, не более	3,0
Массовая концентрация железа, мг/дм ³ , не более	1,5
Массовая концентрация общей сернистой кислоты, мг/дм ³ , не более	45

4.1.4 Массовая концентрация метилового спирта в винном дистилляте не должна превышать 1,5 г/дм³.

4.1.5 Содержание токсичных элементов и радионуклидов в винном дистилляте не должно превышать допустимые уровни, установленные «Гигиеническими требованиями к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» [1].

4.2 Требования к сырью и материалам

4.2.1 Для выработки винного дистиллята применяют:

- виноматериалы виноградные по ГОСТ 7208;
- виноматериалы виноградные оригинальные по ГОСТ Р 51157;
- виноградные вина, не соответствующие ГОСТ 7208 по объемной доле этилового спирта, массовой концентрации сахаров и титруемых кислот;

- виноматериалы, приготовленные из столовых сортов винограда, объемной долей этилового спирта не менее 6,0 %;
- сладкую выжимку, образующуюся при переработке винограда, массовой концентрацией сахара не менее 60 г/дм³;
- сброженную выжимку, полученную при производстве вина, объемной долей этилового спирта не менее 3,0 %;
- отпрессованные дрожжевые и гущевые осадки сухих виноматериалов объемной долей этилового спирта не менее 5,0 %;
- отпрессованные дрожжевые и гущевые осадки крепленых виноматериалов объемной долей этилового спирта не менее 10,0 % с учетом сброженного сахара, содержащегося в осадках;
- спирт виноградный сырец [2].

При производстве винного дистиллята применяют вспомогательные материалы, разрешенные к применению в винодельческой промышленности органами Госсанэпиднадзора Минздрава России.

4.3 Упаковка

4.3.1 Винный дистиллят разливают в дубовые бочки [3] или другие емкости, разрешенные органами Госсанэпиднадзора Минздрава России для контакта с данным видом продукта.

Винный дистиллят разливают в бочки по массе или по объему.

4.3.2 В бочках с винным дистиллятом, предназначенным для транспортирования, должно быть оставлено 1—2 % свободного пространства от общей вместимости бочки. Дубовые бочки закрывают поперечными шпунтами, под которые подкладывают чистый холст. Сверху шпунта прибивают жестяную пластинку.

4.4 Маркировка

4.4.1 Маркирование бочек или других емкостей — по ГОСТ 14192 с указанием: наименования и адреса предприятия-изготовителя; наименования продукта; массы брутто, тары, нетто, кг, или объема продукта, л; номера бочки или другой емкости и партии.

5 Правила приемки

5.1 Правила приемки — по ГОСТ Р 51144.

5.2 Контроль за содержанием токсичных элементов и радионуклидов осуществляют с периодичностью, установленной производителем продукта по согласованию с территориальными органами Госсанэпиднадзора Минздрава России.

6 Методы контроля

6.1 Отбор проб — по ГОСТ Р 51144.

6.2 Методы анализа — по ГОСТ 12280, ГОСТ 13191, ГОСТ 13193, ГОСТ 13194, ГОСТ 13195, ГОСТ 14136, ГОСТ 14138, ГОСТ 14139, ГОСТ 14351, ГОСТ 14352, ГОСТ 26927, ГОСТ 26929, ГОСТ 26930, ГОСТ 26932, ГОСТ 26933.

Радионуклиды определяют по методикам, утвержденным в установленном порядке.

7 Транспортирование и хранение

7.1 Винный дистиллят хранят в таре — по 4.3.1, дубовых бутах [4] и резервуарах при температуре не выше 25 °С.

Резервуары должны быть эмалированными или из нержавеющей стали, разрешенной органами Госсанэпиднадзора Минздрава России для контакта с данным видом продукта, или иметь другие защитные покрытия, или изготовлены из других материалов, разрешенных органами Госсанэпиднадзора Минздрава России для контакта с продуктом данного вида.

7.2 Винный дистиллят транспортируют железнодорожным транспортом в крытых транспортных средствах, а также водным и автомобильным транспортом в транспортной таре или в автомобильных цистернах по ГОСТ 9218, или в специальных железнодорожных цистернах в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на данном виде транспорта.

Цистерны должны быть эмалированными или из нержавеющей стали, разрешенной органами Госсанэпиднадзора Минздрава России для контакта с данным видом продукта, или иметь другие

защитные покрытия, или изготовлены из других материалов, разрешенных органами Госсанэпиднадзора Минздрава России для контакта с продуктом данного вида.

7.3 Срок хранения винного дистиллята не ограничен.

ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное)

Библиография

- [1] САНПиН 2.3.2.560—96 Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов
[2] ТУ 9182—149—0008064—97 Спирты виноградные. Сырец и ректификат. Технические условия
[3] ТУ 10.24.15—90 Бочки деревянные для вин и коньяков
[4] ТУ 10.24.30—90 Буты винные

УДК 663.03.002:006.354

ОКС 67.160.10

Н74

ОКП 91 7630

Ключевые слова: винный дистиллят, определения, технические требования, упаковка, маркировка, правила приемки, методы контроля, транспортирование и хранение

*Редактор Т.П. Шанина
Технический редактор В.И. Прусакова
Корректор В.И. Вареницова
Компьютерная верстка Л.А. Круговой*

Изд. лиц. № 021007 от 10.08.95. Сдано в набор 03.08.99. Подписано в печать 02.09.99. Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,57.
Тираж 326 экз. С3584. Зак. 723.

ИПК Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14.
Набрано в Издательстве на ПЭВМ
Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. "Московский печатник", Москва, Лялин пер., 6.
Пар № 080102

СОГЛАСОВАНО
 Генеральный директор
 НПО «Сады Кубани»
 М. П.
 Е. А. Егоров
 «23» декабря 1999 г.

УТВЕРЖДАЮ
 316 Руководитель организации
 (директор совхоза, председатель колхоза)
 А. Т. Киян
 «24» декабря 1999 г.

Акт внедрения

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских
 и технологических работ Северо-Кавказским зональным НИИ
 садоводства и виноградарства

Заказчик АОЗТ "Кубань", Темрюкского района, Краснодарского края
 (наименование организации, ф., и., о. руководителя организации)

Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по изучению химического со-
 става спирта-сырца с целью последующего производства винных дистиллятов
 (наименование темы, номер госрегистрации)
 для нужд винодельческой промышленности (использование в технологии
 специальных крепких вин)

выполненной лабораторией технологии виноделия
 (отдел)

стоимостью (тыс. руб.)
 (цифрами и прописью)

выполняемой в срок с 01.01.99г. по 30.12.99г.

внедрены в цехе виноматериалов АОЗТ "Кубань" для производства вин
 (наименование подразделений предприятия, где проходило

специальных технологий

внедрение)

1. Вид внедренных результатов Способ производства спирта, технология
 (технологии, машины, эксплуатация изделий,

специальных крепких вин.

функционирование систем)

2. Характеристика масштаба внедрения двадцать шесть тысяч дал
 (объем внедрения, единичное,

виноматериалов

серийное)

3. Форма внедрения, методика

4. Новизна результатов НИР Подана I заявка на изобретение

(принципиально новые, качественно новые,

модификация, модернизация старых разработок)

5. Опытно-производственная проверка составлен акт промышленной апроба-
 (указать номер и дату актов испытаний,

ЦИИ

наименование предприятия, где проходило испытание, проверка)

6. Внедрены:

— в производство крепких специальных вин

(процесс)

— в проектные работы

(указать объект)

7. Годовой экономический эффект:

— ожидаемый

(от внедрения в проект)

тыс. руб.

— фактический _____ тыс. руб.

— в т. ч. доленое участие науки и производства 317 _____ тыс. руб.

(в процентах, цифрами и прописью)

8. Удельная экономическая эффективность внедренных результатов Экономическая эффективность замены ректификата дистиллятами тыс. руб.

9. Объем внедрения составила один миллион 50 тысяч рублей
это составляет _____ % от объема внедрения, положенного в основу расчета гарантированного экономического эффекта, рассчитанного по окончании НИР (Эгар. = _____ тыс. руб.),
а при поэтапном внедрении Э гар. _____ при заключении договора.

КРАТКИЙ РАСЧЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПО ЗАКОНЧЕННОЙ НИР

(допускается расчет на отдельном листе)

10. Социальный и научно-технический эффект. снижение расхода спирта ректификата, достижение натуральности продукции, типизации
(охрана окружающей среды, улучшение и оздоровление условий труда, совершен-

ствование структуры управления и т. д.)

ПРИМЕЧАНИЕ: Настоящий акт внедрения заверяется гербовой печатью со стороны Заказчика и со стороны Исполнителя.

ПРИЛОЖЕНИЯ: 1. Расчет фактического (ожидаемого от внедрения в проект) годового экономического эффекта, подписанный начальником планового отдела (начальником технико-экономического отдела для НИИ), технического отдела, главным бухгалтером (для расчетов фактического эффекта) и заверенный гербовой печатью.
2. Справка о социальном эффекте, подписанная начальником технического отдела, заверенная гербовой печатью.

От НИИ

Руководитель НИР

Р.В. Аванесьянц

Зав. отделом

Н.М. Агеева

Исполнителя

Т.И. Гугучкина

Ю.Ф. Якуба

От предприятия

Гл. специалист отрасли

А.Б. Вишневикий

Главный экономист

В.П. Чуб

Главный бухгалтер

Ответственный за внедрение

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор
НПО «Сады Кубани»

Е. А. Врогов

Руководитель организации
(директор совхоза, председатель колхоза)

Юсуп А. И. Подзолков

23 декабря

19 99 г.

28 декабря 19 99 г.

Акт внедрения

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских
и технологических работ Северо-Кавказским зональным НИИ
садоводства и виноградарстваЗаказчик АОЗТ "Виноград" Республики Кабардино-Балкария
(наименование организации, ф., и., о. руководителя организации)Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по изучению химического
состава спирта-сырца с целью последующего производства винных дистил-
(наименование темы, номер госрегистрации)
лятов для нужд винодельческой промышленности (использование в тех-
нологии специальных крепких вин)выполненной лабораторией технологии виноделия
(отдел)

стоимостью (цифрами и прописью) (тыс. руб.)

выполняемой в срок с 01.01.97г. по 30.12.99г.

внедрены в цехе виноматериалов АОЗТ "Виноград" Республики Кабардино-
(наименование подразделений предприятия, где проходило
Балкария для производства вин специальных технологий
внедрение)1. Вид внедренных результатов Способ производства спирта, технология
(технологии, машины, эксплуатация изделий,
специальных крепких вин.
функционирование систем)2. Характеристика масштаба внедрения 50 тридцать одна тыс. месяцев
(объем внедрения, единицы,
сорок два виноматериалов
серийное)

3. Форма внедрения, методика

4. Новизна результатов НИР Подана I заявка на изобретение
(принципиально новые, качественно новые,

модификация, модернизация старых разработок)

5. Опытно-производственная проверка Составлен акт промышленной апроба-
(указать номер и дату актов испытаний,

ЦИИ

наименование предприятия, где проходило испытание, проверка)

6. Внедрены:
— в производство крепких специальных вин
(процесс)

— в проектные работы (указать объект)

7. Годовой экономический эффект:
— ожидаемый тыс. руб.
(от внедрения в проект)

— фактический _____ тыс. руб.

— в т. ч. доленое участие науки и производства 310 _____ тыс. руб.

(в процентах, цифрами и прописью)

8. Удельная экономическая эффективность внедренных результатов экономическая
эффективность замены ректификации дистиллятами составила тридцать руб.

9. Объем внедрения 554 тыс. руб.

что составляет _____% от объема внедрения, положенного в основу расчета гарантированного экономического эффекта, рассчитанного по окончании НИР (Эгар. = _____ тыс. руб), а при поэтапном внедрении Э гар. _____ при заключении договора.

КРАТКИЙ РАСЧЕТ

ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПО ЗАКОНЧЕННОЙ НИР

(допускается расчет на отдельном листе)

10. Социальный и научно-технический эффект снижение расхода спирта-ректи
фиката, достижение натуральности продукции, типизации

(охрана окружающей среды, улучшение и оздоровление условий труда, совершен-

ствование структуры управления и т. д.)

ПРИМЕЧАНИЕ: Настоящий акт внедрения заверяется гербовой печатью со стороны Заказчика и со стороны Исполнителя.

ПРИЛОЖЕНИЯ: 1. Расчет фактического (ожидаемого от внедрения в проект) годового экономического эффекта, подписанный начальником планового отдела (начальником технико-экономического отдела для НИИ), технического отдела, главным бухгалтером (для расчетов фактического эффекта) и заверенный гербовой печатью.
2. Справка о социальном эффекте, подписанная начальником технического отдела, заверенная гербовой печатью.

От НИИ

Руководитель НИР

Р.В. Аванесьянц

Зав. отделом

Н.М. Агеева

Т.И. Гугучкина

Исполнители

Ю.Ф. Якуба

От предприятия

Гл. специалист отрасли

Н.Н. Исаева

Главный экономист

А.И. Безгин

Главный бухгалтер

Ответственный за внедрение

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
НПО «Сады Кубани»

Продолжение приложения 4

М. П.

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель организации
(директор совхоза, председатель колхоза)

Е. А. Егоров

В. В. Волков

23 декабря 1999 г.

21 декабря 1999 г.

Акт внедрения

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских
и технологических работ Северо-Кавказским зональным НИИ
садоводства и виноградарства

Заказчик ЗАО "Победа" Темрюкского района, Краснодарского края

(наименование организации, ф., и. о. руководителя организации)

Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по изучению химического со-
става спирта-сырца с целью последующего производства винных дистилля-
(наименование темы, номер госрегистрации)

з для нужд винодельческой промышленности (использование в технологии
специальных крепких вин)

выполненной лабораторией технологии виноделия
(отдел)

стоимостью _____ (тыс. руб.)
(цифрами и прописью)

выполняемой в срок с 01.01.99г. по 30.12.99г.

внедрены в цехе виноматериалов ЗАО "Победа" для производства вин спе-
(наименование подразделений предприятия, где проходило
циальных технологий

1. Вид внедренных результатов способ производства спирта, технология
(технологии, машины, эксплуатация изделий,
специальных крепких вин
внедрение)

функционалирование систем)

2. Характеристика масштаба внедрения нет в массовом
(объем внедрения, единичное,
серийное)

3. Форма внедрения, методика _____

4. Новизна результатов НИР подана 1 заявка на изобретения
(принципиально новые, качественно новые,

модификация, модернизация старых разработок)

5. Опытно-производственная проверка составлен акт промышлен-
(указать номер и дату актов испытаний,
ной апробации

наименование предприятия, где проходило испытание, проверка)

6. Внедрены: крепких специальных вин

— в производство _____ (процесс)

— в проектные работы _____ (указать объект)

7. Годовой экономический эффект:

— ожидаемый _____ тыс. руб.
(от внедрения в проект)

— фактический _____ тыс. руб.

— в т. ч. доленое участие науки и производства _____ тыс. руб.

(в процентах, цифрами и прописью)

8. Удельная экономическая эффективность внедренных результатов Экономическая эффективность проекта ректификации составила 172,5 тыс. руб.

9. Объем внедрения _____

что составляет _____ % от объема внедрения, положенного в основу расчета гарантированного экономического эффекта, рассчитанного по окончании НИР (Эгар. = _____ тыс. руб),
при поэтапном внедрении Э гар. _____ при заключении договора.

КРАТКИЙ РАСЧЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПО ЗАКОНЧЕННОЙ НИР

(допускается расчет на отдельном листе)

10. Социальный и научно-технический эффект Снижение расхода спирта-ректификата, достижение натуральности продукции, типизации

(охрана окружающей среды, улучшение и оздоровление условий труда, совершен-

ствование структуры управления и т. д.)

ПРИМЕЧАНИЕ: Настоящий акт внедрения заверяется гербовой печатью со стороны Заказчика и со стороны Исполнителя.

ПРИЛОЖЕНИЯ: 1. Расчет фактического (ожидаемого от внедрения в проект) годового экономического эффекта, подписанный начальником планового отдела (начальником технико-экономического отдела для НИИ), технического отдела, главным бухгалтером (для расчетов фактического эффекта) и заверенный гербовой печатью.
2. Справка о социальном эффекте, подписанная начальником технического отдела, заверенная гербовой печатью.

От НИИ

Руководитель НИР

Р. В. Аванесьянц

Зав. отделом

Н. М. Агеева

Т. И. Гугучкина

Исполнители

Ю. Ф. Якуба

От предприятия

Гл. специалист отрасли

В. В. Волков

Главный экономист

Гл. винодел

Л. Н. Тютюнник

Главный бухгалтер

Ответственный за внедрение

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
НПО «Сяды Кубани»
Е. А. Егоров
М. П.
23 декабря 1999 г.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель организации
(директор совхоза, председатель колхоза)
В. В. Передистый
30 декабря 1999 г.

Акт внедрения

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских
и технологических работ Северо-Кавказским зональным НИИ
садоводства и виноградарства

Заказчик АФ "Южная", Темрюкский район Краснодарский край
(наименование организации, ф., и., о. руководителя организации)

Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по изучению химического
состава спирта-сырца с целью последующего производства винных

(наименование темы, номер госрегистрации)

-дистиллятов для нужд винодельческой промышленности (использование в
технологии специальных крепких вин)

выполненной лабораторией технологии виноделия
(отдел)

стоимостью - (тыс. руб.)
(цифрами и прописью)

выполняемой в срок с 01.01.97г. по 30.12.99г.

внедрены в цехе виноматериалов АФ "Южная" Для производства вин спе-
(наименование подразделений предприятия, где проходило
циальных технологий

внедрение)

1. Вид внедренных результатов Способ производства спирта, технология
специальных крепких вин
(технологии, машины, эксплуатация изделий,
функционирование систем)

2. Характеристика масштаба внедрения
(объем внедрения, единичное,

серийное)

3. Форма внедрения, методика

4. Новизна результатов НИР Подана I заявка на изобретение
(принципиально новые, качественно новые,

модификация, модернизация старых разработок)

5. Опытно-производственная проверка Составлен акт промышленной апробации
(указать номер и дату актов испытаний,

наименование предприятия, где проходило испытание, проверка)

6. Внедрены:
— в производство крепких специальных вин
(процесс)

— в проектные работы
(указать объект)

7. Годовой экономический эффект:
— ожидаемый

(от внедрения в проект)

тыс. руб.

— фактический _____ тыс. руб.

— в т. ч. доленое участие науки и производства _____ тыс. руб.

(в процентах, цифрами и прописью)

8. Удельная экономическая эффективность внедренных результатов экономическая эффективность
замена ректификация винными дистиллятами состава 675 тыс. руб.

9. Объем внедрения _____
что составляет _____ % от объема внедрения, положенного в основу расчета гарантированного экономического эффекта, рассчитанного по окончании НИР (Эгар. = _____ тыс. руб.), а при поэтапном внедрении Э гар. _____ при заключении договора.

КРАТКИЙ РАСЧЕТ

ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПО ЗАКОНЧЕННОЙ НИР

(допускается расчет на отдельном листе)

10. Социальный и научно-технический эффект Снижение расхода спирта-ректифика
ката, достижение натуральности продукции, типизации

(охрана окружающей среды, улучшение и оздоровление условий труда, совершен-

ствование структуры управления и т. д.)

ПРИМЕЧАНИЕ: Настоящий акт внедрения заверяется гербовой печатью со стороны Заказчика и со стороны Исполнителя.

ПРИЛОЖЕНИЯ: 1. Расчет фактического (ожидаемого от внедрения в проект) годового экономического эффекта, подписанный начальником планового отдела (начальником технико-экономического отдела для НИИ), технического отдела, главным бухгалтером (для расчетов фактического эффекта) и заверенный гербовой печатью.
2. Справка о социальном эффекте, подписанная начальником технического отдела, заверенная гербовой печатью.

От НИИ [подпись] Р. В. Аванесьянц

Руководитель НИР [подпись] Н. М. Агеева

Зав. отделом [подпись] Т. И. Гугучкина

Исполнители [подпись] Ю. Ф. Якуба

От предприятия [подпись] П. И. Тычина

Гл. специалист отрасли [подпись] А. П. Тычина

Главный экономист [подпись] Н. Н. Комарова

Главный бухгалтер _____

Ответственный за внедрение _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНУ РАСХН
Северо-Кавказского зонального
НИИ садоводства и виноградарства

Е. А. Егоров

« 22 » декабря 1999 г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор АФ «Южная»

А. В. Передистый

« 25 » декабря 1999 г.

АКТ АПРОБАЦИИ

технологии производства крепких вин с применением винных дистиллятов

Мы, нижеподписавшиеся, представители в/з АФ «Южная» в лице главного инженера Тычины П.И., зав. производством Комаровой Н.Н., технолога Тычины А.П. с одной стороны и представителей ГНУ РАСХН СКЗНИИСиВ в лице н.с. Якубы Ю.Ф., в.н.с., к.т.н. Агеевой Н.М. и главного специалиста комитета по алкогольной промышленности администрации Краснодарского края к.т.н. Аванесьянц Р.В. составили настоящий акт о том, что в период с 1997 по 1999гг. проведены анализы химического состава спиртов-сырцов виноградного происхождения, полученных по различным технологиям с целью их последующего использования для производства крепких специальных вин. За указанный период времени винзаводом выработано 4,5 тысяч дал спиртов в последующем использованных для производства 30 тысяч дал виноматериалов следующих наименований: Кубанское крепкое, Южное и др. Предлагаемая технология позволила снизить потребность завода в спирте-ректификате. Полученные материалы отвечали требованиям натуральности вина. Органолептическая оценка виноматериалов подтвердила их высокое качество и соответствие требованиям действующего ГОСТ Р 51298-99. Дистилляты винные.

От комитета по алкогольной
промышленности

Аванесьянц Р.В., к.т.н.

от ГНУ РАСХН СКЗНИИСиВ

Якуба Ю.Ф.

Агеева Н.М., к.т.н.

От АФ «Южная»

Тычина П.И.

Тычина А.П., к.т.н.

Комарова Н.Н.

Приложение А-2

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПИВОВАРЕННОЙ, БЕЗАЛКОГОЛЬНОЙ И ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

119021, Россия, г. Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: (499) 246-67-69, факс: (499) 246-10-81

E-mail: institute@vniinapilkov.ru

УТВЕРЖДАЮ

Председатель технического
комитета по стандартизации ТК 091
«Пивобезалкогольная и
винодельческая продукция»,
директор ГНУ ВНИИПБиВП
Россельхозакадемии,
академик РАСХН, д.т.н., профессор

_____ Оганесянц Л. А.

«_____» _____ 2010 г.

МЕТОДИКА
ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ
ИОНОВ АММОНИЯ, КАЛИЯ, НАТРИЯ, МАГНИЯ И КАЛЬЦИЯ
В ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Москва, 2010 год

1 Методика разработана Государственным научным учреждением Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПБиВП Россельхозакадемии).

Адрес: 119021, Россия, г. Москва, ул. Россолимо, д.7

Телефон: (8-499) 246-6769, факс: (8-499) 246-10-81

E-mail: institute@vniinapitkov.ru

Заместитель директора
по научной работе, д-р техн. наук, профессор А.Л. Панасюк

Заведующая отделом
технологии крепких напитков В.А. Песчанская

Заведующая сектором
аналитических методов анализа, канд. техн. наук В.П. Осипова

Заместитель заведующего сектором
аналитических методов анализа, канд. физ.-мат. наук Б.А. Гришковский

Ведущий инженер С.В. Большакова

- Государственным научным учреждением Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии).

Адрес: 350901, г. Краснодар, ул. 40 лет Победы, д.39

Телефон: (8-861) 252-70-74, 252-64-36, факс: (8-861) 257-57-02.

Директор,
д-р экон. наук, профессор Е.А. Егоров

Заведующая научным центром виноделия,
д-р с.-х. наук, профессор Т.И. Гугучкина

Заведующая лабораторией стабилизации, микробиологии
и химии вина научного центра виноделия,
д-р техн. наук, профессор Н.М. Агеева

Заведующий проблемно-
исследовательской лабораторией,
канд. техн. наук, доцент Ю.Ф. Якуба

Научный сотрудник научного центра виноделия,
канд. техн. наук М.В. Аптоненко

Научный сотрудник научного центра вышележа,
канд. техн. наук

М.Г. Марковский

2 Методика выполнения измерений аттестована Федеральным Государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" (ФГУП "ВНИИМС"). Свидетельство об аттестации № 61-10 от 15 октября 2010 года, порядковый номер регистрации в Федеральном реестре методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора _____, регистрационный код МВИ по Федеральному реестру _____.

1 Назначение и область применения

Настоящая методика выполнения измерений устанавливает процедуру определения массовой концентрации ионов - аммония, калия, натрия, магния и кальция методом капиллярного электрофореза в винах и виноматериалах.

Диапазон измерений массовой концентрации ионов – аммония, натрия, магния, кальция составляет от 1,0 до 1000 мг/дм³ включительно, для иона калия от 1,0 до 1500 мг/дм³ включительно.

Рекомендуется для использования при идентификации образцов винодельческой продукции и при проведении научно-исследовательских работ.

2 Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и её составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

Наименование катиона	Диапазон измерений массовой концентрации, мг/дм ³	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_p , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости, r , % $P=0,95, n=2$
Аммоний	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Калий	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1500 вкл.	10	2,5	4	7
Натрий	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Магний	От 1,0 до 10 вкл.	19	6	9	17
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3,5	5	10
Кальций	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1 Средства измерений и вспомогательные устройства

3.1.1 Прибор (система) капиллярного электрофореза с отрицательной полярностью источника высокого напряжения от 3 до 25 кВ, оснащенный кварцевым капилляром длиной не менее 50 см, внутренним диаметром 75 мкм, фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, и электронно-вычислительной машиной (компьютером) с программным обеспечением для обработки электрофореграмм.

3.1.2 Весы Ohaus лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104-2001.

3.1.3 Термометр жидкостной стеклянный с ценой деления 1 °С, пределом измерений (0-100) °С по ГОСТ 28498-90.

3.1.4 Пипетки мерные градуированные 1-1(2), 1-1(5) по ГОСТ 29227-91.

3.1.5 Колбы мерные 2-50-1, 2-100-1 по ГОСТ 1770-74.

3.1.6 Микродозатор одноканальный с переменным объемом (20-200) мкл.

3.1.7 Микродозатор одноканальный с переменным объемом (100-1000) мкл.

3.1.8 Пипетки 2-1-1, 2-1-5, 2-1-10, 2-1-25 ГОСТ 29169-91.

3.1.9 Государственные стандартные образцы (ГСО) водного раствора ионов с аттестованными значениями массовой концентрации и относительной погрешностью не более (\pm)1 % при $P=0,95$:

- ГСО 7786-2000 с массовой концентрацией ионов аммония 1 г/дм³;

- ГСО 7771-2000 с массовой концентрацией ионов калия 1 г/дм³;

- ГСО 7775-2000 с массовой концентрацией ионов натрия 1 г/дм³;

- ГСО 7767-2000 с массовой концентрацией ионов магния 1 г/дм³;

- ГСО 7772-2000 с массовой концентрацией ионов кальция 1 г/дм³.

3.1.10 Прибор Phenomenex вакуумного фильтрования с вакуумным насосом.

3.1.11 Фильтры мембранные из целлюлозы с размером пор 0,45 мкм.

3.1.12 Стаканы В-1-50 ТС по ГОСТ 25336-82.

3.1.13 Стаканчик СВ – 14/8 по ГОСТ 25336-82.

3.1.14 Водяная баня.

3.1.15 Центрифуга лабораторная с частотой вращения ротора не менее 6000 об/мин.

3.1.16 Пробирки Эппендорфа вместимостью 1,5 см³ по ТУ 62-2-300-80.

3.1.17 Бутыли из полиэтилена с завинчивающейся крышкой вместимостью 20, 50, 100 и 1000 см³.

3.2 Реактивы и материалы

3.2.1 Кислота соляная, квалификации «х.ч.» по ГОСТ 3118-77.

3.2.2 Натрия гидроксид с содержанием основного вещества не менее 99,0 % по ГОСТ 4328-77.

3.2.3 Кислота винная, квалификации «ч.д.а.» по ГОСТ 5817-77.

3.2.4 18-Краун-6-эфир с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, производства фирмы Fluka (18-Crown-6, каталожный № 07673)

3.2.5 Бензимидазол по ТУ 6-09-1078-84 с содержанием основного вещества

не менее 99,0 %.

3.2.6 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

3.2.7 Вода деионизованная электрическим сопротивлением не менее 18,2 МОм.

Примечание – средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается применение других средств измерений, оборудования, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с метрологическими и техническими характеристиками не хуже приведённых выше.

4 Метод измерений

Метод капиллярного электрофореза основан на разделении ионов вследствие их различной электрофоретической подвижности в процессе миграции по кварцевому капилляру в электролите под воздействием электрического поля с последующей регистрацией детектором.

5 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении измерений массовой концентрации ионов аммония, калия, натрия, магния, кальция соблюдают следующие требования.

5.1 Требования электробезопасности при работе с приборами по ГОСТ 12.1.019-79 и в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

5.2 При работе с чистыми веществами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007-76. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88.

5.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.018-86, ГОСТ 12.1.004, взрывобезопасности по ГОСТ 12.1.010 и должно быть оборудовано средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83.

5.4 Организация обучения работающих по ГОСТ 12.0.004-90.

6 Требования к квалификации операторов

К работе на приборе допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже инженера, владеющих навыками проведения анализа методом капиллярного электрофореза и изучивших инструкции по эксплуатации используемой аппаратуры.

7 Условия измерений

При выполнении измерений в лаборатории соблюдают следующие условия:

температура окружающего воздуха _____ (20 ± 5) °С;

атмосферное давление _____ (84,0 – 106,3) кПа;

относительная влажность воздуха _____ (30-80) %;

напряжение переменного тока _____ ($220 \pm_{53}^{22}$) В;

частота переменного тока _____ (50 ± 1) Гц.

8 Отбор проб

Отбор проб для анализа по ГОСТ Р 51144-98 «Продукты винодельческой промышленности. Правила приёмки и методы отбора проб».

9 Подготовка к выполнению измерений

Подготовку прибора к работе проводят в соответствии с инструкцией по его эксплуатации.

9.1 Приготовление буферного (ведущего электролита) и вспомогательных растворов

9.1.1 Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,5 моль/дм³ для промывки капилляра

Навеску гидроксида натрия массой 2 г помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в 50-60 см³ деионизированной воды, доводят объем раствора до метки деионизированной водой и перемешивают.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой не более 2 месяцев.

9.1.2 Приготовление раствора соляной кислоты массовой долей 3,5 %

В мерную колбу вместимостью 100 см³ с пришлифованной пробкой вносят 8,3 см³ соляной кислоты плотностью 1,18 г/см³, затем доводят объем раствора до метки деионизированной водой и перемешивают.

Срок хранения до 6 месяцев.

9.1.3 Приготовление основного буферного раствора (ведущего электролита)

9.1.3.1 Приготовление раствора бензимидазола с массовой долей 0,236 %

В стакан вместимостью 50 см³ вносят навеску массой 0,236 г бензимидазола, добавляют 25 см³ деионизированной воды и выдерживают на водяной бане при температуре 40-60 °С до полного растворения. Полученный раствор охлаждают до 20 °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 1 месяца.

9.1.3.2 Приготовление раствора винной кислоты с массовой долей 0,375 %

В стакан вместимостью 50 см³ вносят навеску массой 0,375 г винной кислоты, добавляют 10 см³ деионизированной воды и перемешивают. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ с пришлифованной пробкой, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой при 4-6 °С не более 1 месяца.

9.1.3.3 Приготовление раствора 18-крауна-6 с массовой долей 0,26 %

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят навеску массой 0,130 г 18-крауна-6, растворяют в деионизированной воде и доводят до метки деионизированной водой.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой при 4-6 °С не более 1 месяца.

9.1.3.4 Приготовление рабочего буферного раствора (ведущего электролита)

В сухой стеклянный сосуд с закрывающейся крышкой вносят 3 см³ раствора бензимидазола, приготовленного по 9.1.3.1, 1 см³ раствора винной кислоты, приготовленного по 9.1.3.2, 2 см³ раствора 18-крауна-6, приготовленного по 9.1.3.3 и тщательно перемешивают. Полученный рабочий буферный раствор помещают в пробирки Эппендорфа в количестве 0,8 см³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин для удаления воздуха или взвешенных микрочастиц.

Срок хранения рабочего буферного раствора при комнатной температуре не более 2 суток с момента приготовления.

Все растворы фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм. Все растворы хранят в плотно закрытой посуде из полимерного материала.

9.2 Приготовление градуировочных растворов

9.2.1 Приготовление основного градуировочного раствора №1 (массовая концентрация ионов аммония, натрия, магния и кальция 80 мг/дм³ и калия 160 мг/дм³)

В мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 см³ помещают по 4,0 см³ ГСО водных растворов ионов аммония, натрия, магния и кальция и 8,0 см³ ГСО раствора иона калия, доводят до метки деионизированной водой и перемешивают.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой при 4-6 °С не более 3 месяцев. Состав смесей для градуировки приведен в таблице 1.

Градуировочные растворы перед вводом в прибор центрифугируют в течение 5 мин при 6000 мин⁻¹.

Таблица 2

Наименование ионов	Массовая концентрация ионов, мг/дм ³				
	смесь №1	смесь №2	смесь №3	смесь №4	смесь №5
Аммоний	80	40	20	8,0	1,6
Калий	160	80	40	16,0	3,2
Натрий	80	40	20	8,0	1,6
Магний	80	40	20	8,0	1,6
Кальций	80	40	20	8,0	1,6

9.2.2 Приготовление рабочих градуировочных растворов ионов №2, №3, №4, №5

В четыре мерные колбы со шлифом вместимостью 50 см³ пипетками вносят соответственно по 25,0, 12,5, 5,0, и 1,0 см³ раствора ионов, приготовленного по 9.2.1, затем доводят объемы растворов в колбах до метки деионизированной

водой, тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в плотно закрытой посуде из полимерного материала при температуре 4-6 °С не более 2-х недель со дня приготовления.

Состав смесей для градуировки приведен в таблице 2.

Перед применением градуировочные растворы концентрацией отбирают мерной пипеткой в объеме 0,8 см³ в пробирки Эппендорфа и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин для удаления растворенного воздуха.

9.3 Режимные параметры и порядок проведения анализа

9.3.1 Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие режимные параметры:

- длина волны 254 нм;
- напряжение – 16 кВ;
- пневматический ввод пробы;
- давление ввода пробы – 30 мБар;
- время ввода пробы – 5 с;
- время анализа 15 мин;
- буферный раствор (ведущий электролит) – см. 9.1.3.4;
- термостатирование капилляра проводят при температуре 20 °С.

Допускается проведение анализа в других условиях выполнения измерений, обеспечивающих разделение и последовательность выхода ионов, аналогичное приведенному на электрофореграмме (рисунок 1).

9.4 Ежедневная подготовка капилляра к работе

Подготовку нового капилляра к работе проводят в соответствии с руководством по его эксплуатации.

Перед началом работы капилляр (при включении прибора) промывают 3,5% раствором соляной кислоты (приготовленной по 9.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой – 3 мин, затем 4% раствором гидроксида натрия (приготовленного по 9.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим буферным раствором (ведущим электролитом, приготовленным по 9.1.3.4) в течение 3 мин.

Повторение начальной промывки проводят:

- при загрязнении капилляра (проявляется в сильном искажении электрофореграммы);
- если времена миграции определяемых ионов отличаются более чем на 5 % от градуировочных характеристик.

Между анализами капилляр промывают рабочим буфером в течение 2 мин.

Уровни жидкости в вials с электролитом на входе и выходе капилляра должны быть одинаковыми. Содержимое одной пробирки с рабочим буферным раствором (ведущим электролитом) объемом 0,8 см³ можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

По окончании работы капилляр промывают раствором гидроксида натрия, приготовленным по 9.1.1, в течение 15 мин. После промывки концы капилляра

опускают в вials с деионизированной водой.

9.5 Градуировка прибора

Градуировку прибора выполняют, используя градуировочные смеси №2, №3, №4, №5 методом абсолютной градуировки.

Градуировку прибора проводят после промывки капилляра буферным раствором (ведущим электролитом), приготовленным по 9.1.3.4, в течение 20 мин. Градуировку прибора выполняют, используя три градуировочные смеси (№4, №3, №2), приготовленные по 9.2.2. Записывают электрофореграммы анализа каждой градуировочной смеси. Регистрируют время удерживания и площади пиков определяемых ионов. Измерения выполняют не менее двух раз в режимных параметрах, установленных по 9.3.1. Типовая электрофореграмма анализа градуировочной смеси для определения содержания ионов в винодельческой продукции приведена на рисунке 1.

Градуировочную характеристику устанавливают, обрабатывая полученные экспериментальные данные методом наименьших квадратов при помощи программного обеспечения. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99.

Новую градуировку также проводят:

- при смене капилляра;
- при использовании новой партии буферного раствора (ведущего электролита);
- при изменении рабочих параметров прибора;
- после промывки капилляра;
- при отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

Примеры электрофореграмм приведены в приложении А.

9.6 Подготовка образца

Исследуемый образец разбавляют деионизированной водой до концентрации ионов не более 100 мг/дм^3 и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин.

10 Выполнение измерений

Подготовленный образец помещают в устройство для ввода проб в прибор и проводят измерения в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора в режимных параметрах, установленных по 9.3.1.

Регистрируют пики в области времени миграции, соответствующего каждому компоненту градуировочной смеси. Образец анализируют два раза в условиях повторяемости. Для количественного расчета данных составляют калибровочный массив по методу абсолютной градуировки.

В случае затруднения идентификации ионов, используют метод добавок. Для этого в анализируемую пробу вносят раствор идентифицируемого иона (аммония, калия, натрия, магния или кальция) с расчетом увеличения концентрации на $100 \pm 50 \%$ и измерение повторяют. Увеличение высоты соответствующего пика свидетельствует о правильной идентификации.

Используя электрофорезграмму, зарегистрированную по 10, при помощи программного обеспечения к прибору рассчитывают массовую концентрацию ионов по установленной градуировочной зависимости (9.5).

11 Обработка и оформление результатов измерений

11.1 Массовую концентрацию в исследуемой пробе X , мг/дм³, вычисляют по формуле (1)

$$X = k C, \quad (1)$$

где k – коэффициент разбавления пробы;

C – массовая концентрация иона, найденная по градуировочному графику, мг/дм³.

11.2 За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (2)

$$2 \cdot \frac{|X_{i1} - X_{i2}| \cdot 100}{(X_{i1} + X_{i2})} \leq r_i, \quad (2)$$

где X_{i1} , X_{i2} – результаты параллельных определений массовой концентрации i -го иона, мг/дм³;

r_i – значение предела повторяемости i -го иона, % (Таблица 1).

11.2 Если условие (2) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной МВИ. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие (3)

$$\frac{4 \cdot |X_{i \max} - X_{i \min}| \cdot 100}{(X_{i1} + X_{i2} + X_{i3} + X_{i4})} \leq CR_{0,95}, \quad (3)$$

где $X_{i \max}$, $X_{i \min}$ – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации i -го иона, мг/дм³;

$CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня вероятности $P=0,95$ и n – результатов определений.

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_{ri}$$

Для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_{ri}, \quad (4)$$

где σ_{ri} – показатель повторяемости i -го иона, % (Таблица 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

11.3 Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\bar{C}_i \pm 0,01 \cdot \delta_i \cdot \bar{C}_i, \text{ при } P=0,95,$$

где \bar{C}_i - среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по 11.2, 11.3, мг/дм³;

$\pm \delta_i$ - границы относительной погрешности измерений i -го иона, %.

В случае, если содержание i -го иона ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, то производят следующую запись в журнале: "массовая концентрация i -го иона менее _____ мг/дм³ (более _____ мг/дм³)".

12 Контроль качества результатов измерений, при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений», используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности по 6.2.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

Приложение А (обязательное)

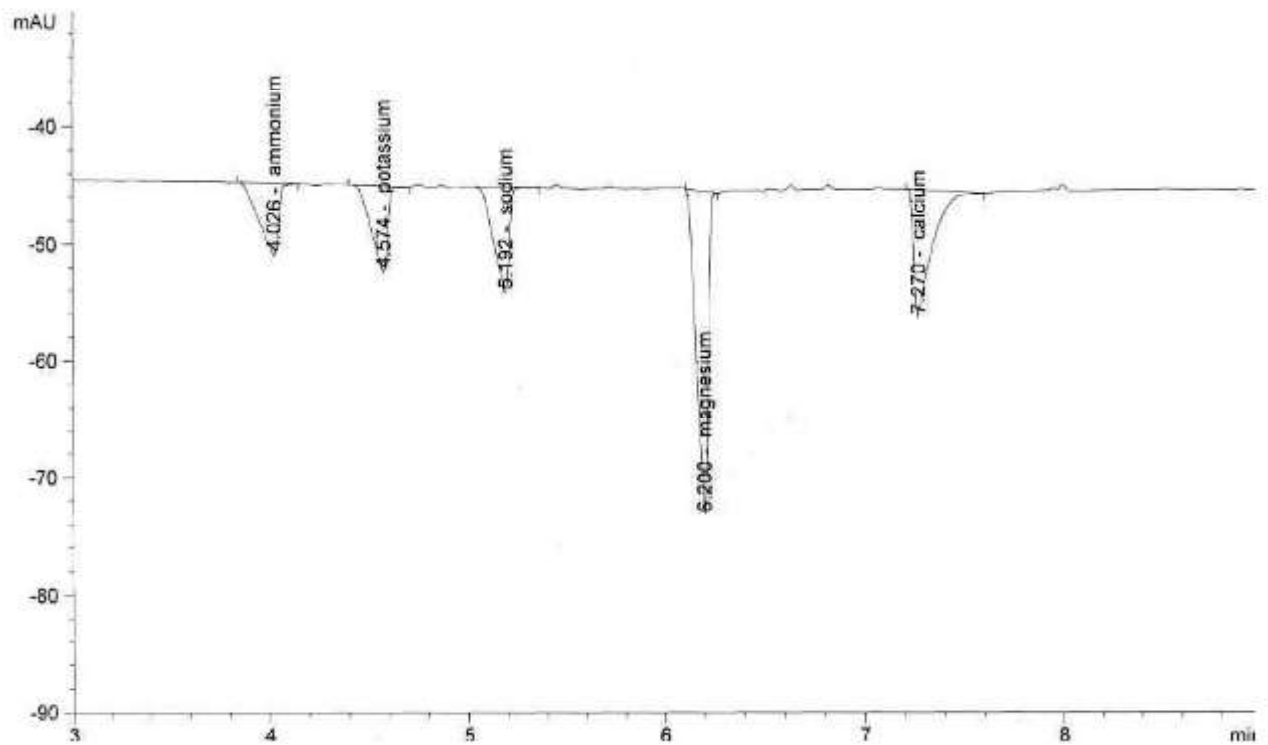


Рисунок 1 – Электрофорсграмма градуировочного раствора катионов: аммония 40 мг/дм³, калия 80 мг/дм³, натрия 40 мг/дм³, магния 40 мг/дм³ и кальция 40 мг/дм³.

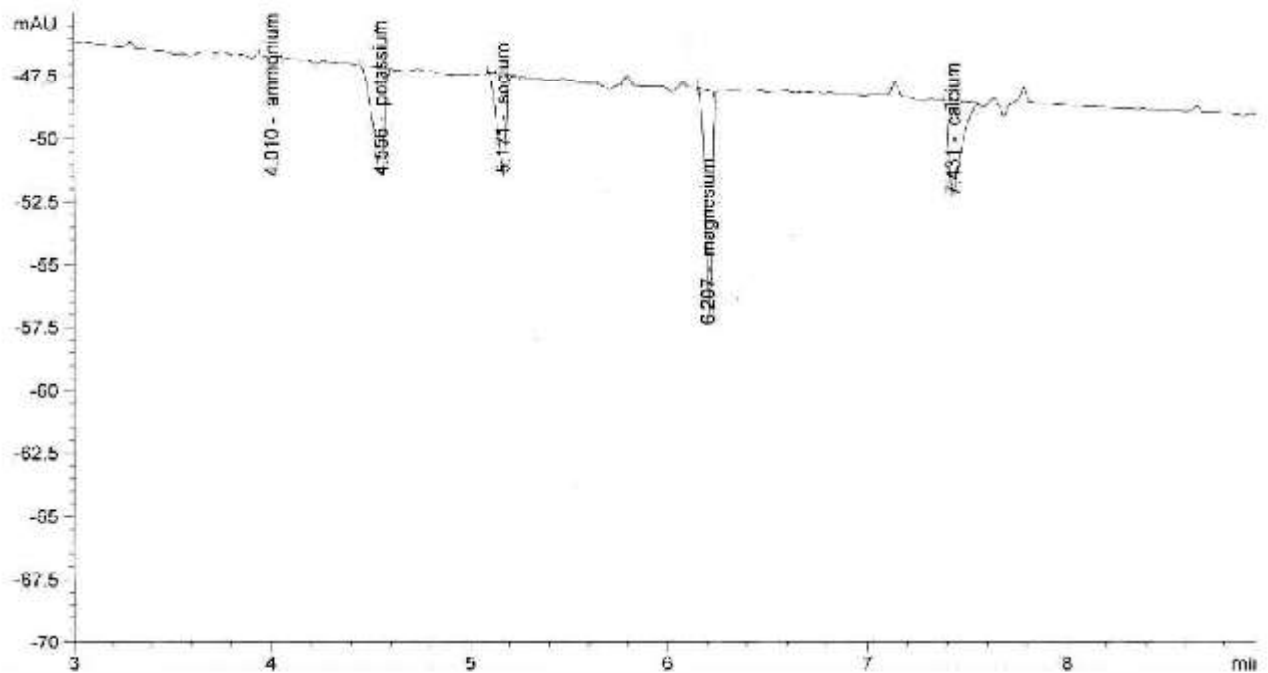


Рисунок 2 - Электрофорсграмма образца виноматериала столового сухого белого (разбавление в 10 раз), содержащего катионы: аммония 4,87 мг/дм³, калия 470,23 мг/дм³,

натрия 132,59 мг/дм³, магния 99,81 мг/дм³ и кальция 143,11 мг/дм³.

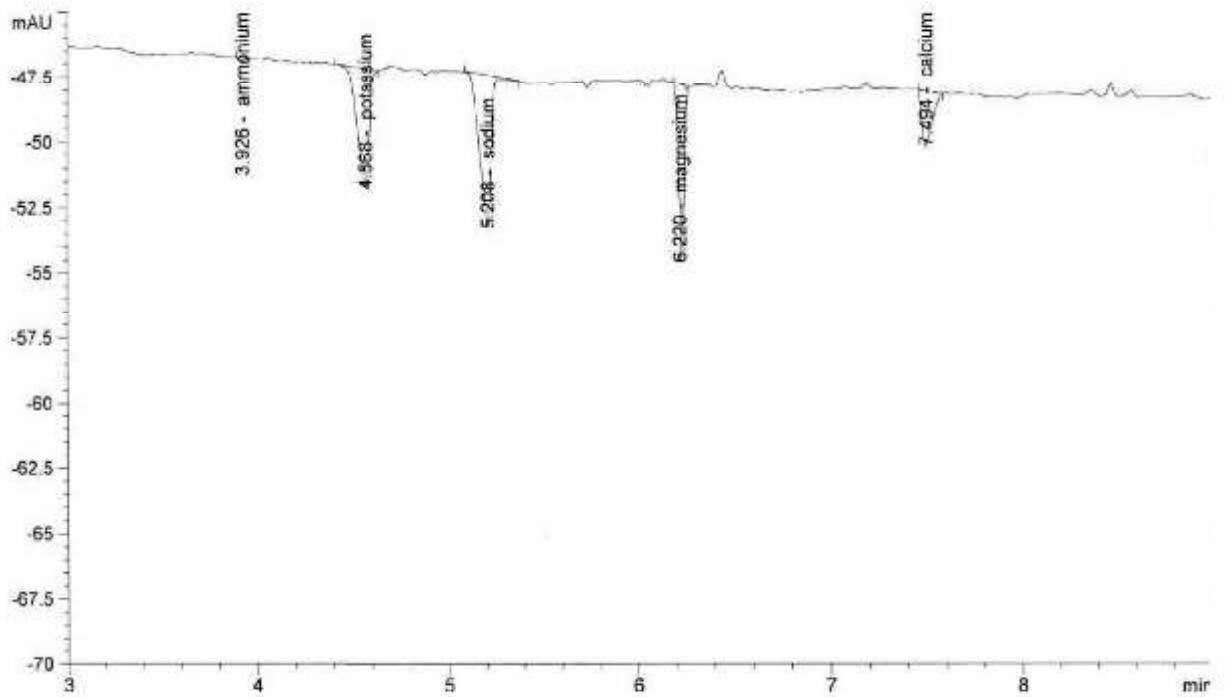


Рисунок 3 - Электрофорезграмма образца випоматериала столового сухого красного (разбавление в 10 раз), содержащего катионы: аммония 3,62 мг/дм³, калия 530,10 мг/дм³, натрия 249,62 мг/дм³, магния 65,99 мг/дм³ и кальция 66,23 мг/дм³.



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ
РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ**

119361 Москва, Озёрная ул., д. 46 E-mail: analyt-vm@vniims.ru

Тел. (495) 437 9419
Факс: (495) 437 5666

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 61-10

ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ

**МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ
МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ
АММОНИЯ, КАЛИЯ, НАТРИЯ, МАГНИЯ И КАЛЬЦИЯ
В ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**

Методика выполнения измерений массовой концентрации ионов аммония, калия, натрия, магния и кальция в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза, разработанная Государственным научным учреждением "Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности" Российской академии сельскохозяйственных наук, Государственным научным учреждением Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук, аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96, ГОСТ Р ИСО 5725-2002.

Аттестация осуществлена по результатам экспериментальных исследований МВИ.

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает основными метрологическими характеристиками, приведенными на обороте настоящего свидетельства.

При реализации методики в лаборатории обеспечивают контроль стабильности результатов анализа на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности и показателя правильности.

Дата выдачи 20 октября 2010 года

Заместитель директора



В.Н. Яншин

РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ АТТЕСТАЦИИ

Наименование иона	Диапазон измерений массовой концентрации, мг/дм ³	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости, r , % $P=0,95, n=2$
Аммоний	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Калий	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1500 вкл.	10	2,5	4	7
Натрий	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Магний	От 1,0 до 10 вкл.	19	6	9	17
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3,5	5	10
Кальций	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7

Начальник сектора



О.Л. Рутенберг

Инженер



Т.С. Коробко

Приложение А-3

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПИВОВАРЕННОЙ, БЕЗАЛКОГОЛЬНОЙ И ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

119021, Россия, г. Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: (499) 246-67-69, факс: (499) 246-10-81
E-mail: institute@vniinapitkov.ru

УТВЕРЖДАЮ

Председатель технического
комитета по стандартизации ТК 091
«Пивобезалкогольная и
винодельческая продукция»,
директор ГНУ ВНИИПБиВП
Россельхозакадемии,
академик РАСХН, д.т.н., профессор

_____ Оганесянц Л. А.

« ____ » _____ 2010 г.

МЕТОДИКА
ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ
ХЛОРИД-, НИТРИТ-, НИТРАТ- И СУЛЬФАТ-ИОНОВ
В ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Москва, 2010 год

1 Методика разработана Государственным научным учреждением Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПБиВП Россельхозакадемии).

Адрес: 119021, Россия, г. Москва, ул. Россолимо, д.7

Телефон: (8-499) 246-6769, факс: (8-499) 246-10-81

E-mail: institute@vniinapitkov.ru

Заместитель директора
по научной работе, д-р техн. наук, профессор А.Л. Панасюк

Заведующая отделом
технологии крепких напитков В.А. Песчанская

Заведующая сектором
аналитических методов анализа, канд. техн. наук В.П. Осипова

Заместитель заведующего сектором
аналитических методов анализа, канд. физ.-мат. наук Б.А. Гришковский

Ведущий инженер С.В. Большакова

- Государственным научным учреждением Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии).

Адрес: 350901, г. Краснодар, ул. 40 лет Победы, д.39

Телефон: (8-861) 252-70-74, 252-64-36, факс: (8-861) 257-57-02.

Директор,
д-р экон. наук, профессор Е.А. Егоров

Заведующая научным центром виноделия,
д-р с.-х. наук, профессор Т.И. Гугучкина

Заведующая лабораторией стабилизации, микробиологии
и химии вина научного центра виноделия,
д-р техн. наук, профессор Н.М. Агеева

Заведующий проблемно-
исследовательской лабораторией,
канд. техн. наук, доцент Ю.Ф. Якуба

Научный сотрудник научного центра виноделия,
канд. техн. наук Л.Э. Ногвиченко

2 Методика выполнения измерений аттестована Федеральным Государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" (ФГУП "ВНИИМС"). Свидетельство об аттестации № 60-10 от октября 2010 года, порядковый номер регистрации в Федеральном реестре методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора _____, регистрационный код МВИ по Федеральному реестру _____.

1 Назначение и область применения

Настоящая методика выполнения измерений устанавливает процедуру определения массовой концентрации хлорид-, нитрит-, нитрат- и сульфат-ионов методом капиллярного электрофореза в винах и виноматериалах.

Диапазон измеряемых значений массовой концентрации ионов с учетом разбавлений составляет от 1,0 до 1000 мг/дм³ включительно.

Рекомендуется для использования при идентификации образцов винодельческой продукции и при проведении научно-исследовательских работ.

2 Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и её составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

Наименование иона	Диапазон измерений массовой концентрации, мг/дм ³	Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % при P=0,95	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ _v , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ _R , %	Предел повторяемости, т, % P=0,95, n=2
Хлорид	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7
Нитрит	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Нитрат	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Сульфат	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1 Средства измерений и вспомогательные устройства

3.1.1 Прибор (система) капиллярного электрофореза с отрицательной полярностью источника высокого напряжения от 3 до 25 кВ, оснащенный кварцевым капилляром длиной не менее 50 см, внутренним диаметром 75 мкм, фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, и электронно-вычислительной машиной (компьютером) с программным обеспечением для обработки электрофореграмм.

3.1.2 Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104-2001 с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,0001$ г.

3.1.3 Термометр жидкостной стеклянный с диапазоном измерения от 0 до 100°C и ценой деления 1°C по ГОСТ 28498-90.

3.1.4 Прибор Phenomenex вакуумного фильтрования с вакуумным насосом.

3.1.5 Фильтры мембранные из целлюлозы с размером пор 0,45 мкм.

3.1.6 Шашки 2-1-1, 2-1-25, 2-1-50 ГОСТ 29169-91.

3.1.7 Пипетка мерная градуированная 1-(2)-1-1 по ГОСТ 29227-91.

3.1.8 Колбы мерные 2-25-1, 2-50-1, 2-100-1 по ГОСТ 1770-74.

3.1.9 Микродозатор одноканальный с переменным объемом (20-200) мкл.

3.1.10 Микродозатор одноканальный с переменным объемом (100-1000) мкл.

3.1.11 Стаканы В-1-25(50) ТС по ГОСТ 25336-82.

3.1.12 Стаканчик СВ – 14/8 по ГОСТ 25336-82.

3.1.13 Водяная баня.

3.1.14 Центрифуга лабораторная с частотой вращения ротора не менее 6000 об/мин.

3.1.15 Пробирки Эшендорфа вместимостью 1,5 см³ по ТУ 62-2-300-80.

3.1.16 Бутыли из полиэтилена с завинчивающейся крышкой вместимостью 20, 50, 100 и 1000 см³.

3.2 Реактивы и материалы

3.2.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

3.2.2 Вода деионизованная с удельным сопротивлением не менее 18,2 мОм/см.

3.2.3 Кислота соляная по ГОСТ 3118-77.

3.2.4 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328-77 с массовой концентрацией не менее 99,0 %.

3.2.5 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ Р 51652-2000.

3.2.6 Бихромат калия по ГОСТ 2652-76 с массовой концентрацией не менее 99,0 %.

3.2.7 Тетраметиленамин по ТУ 6-09-37-1039-90 с массовой концентрацией не менее 99,0 %.

Государственные стандартные образцы (ГСО) водного раствора ионов с аттестованными значениями массовой концентрации 1 г/дм³ и относительной погрешностью не более ± 1 % при P=0,95:

3.2.8 ГСО 6687-93 с массовой концентрацией хлорид ионов.

3.2.9 ГСО 7021-93 с массовой концентрацией нитрит ионов.

3.2.10 ГСО 7258-96 с массовой концентрацией нитрат ионов.

3.2.11 ГСО 6693-93 с массовой концентрацией сульфат ионов.

Примечание – средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с метрологическими и техническими характеристиками не хуже приведенных выше.

4 Метод измерений

Метод измерений основан на разделении ионов вследствие их различной электрофоретической подвижности в процессе миграции по кварцевому капилляру в электролите под воздействием электрического поля с последующей регистрацией детектором.

5 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении измерений массовой концентрации хлорид-, нитрит-, нитрат- и сульфат-ионов соблюдают следующие требования.

5.1 Требования электробезопасности при работе с прибором по ГОСТ 12.1.019-79 и в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

5.2 При работе с чистыми веществами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007-76. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88.

5.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.018-86, ГОСТ 12.1.004, взрывобезопасности по ГОСТ 12.1.010 и должно быть оборудовано средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83.

5.4 Организация обучения работающих по ГОСТ 12.0.004-90.

6 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже инженера, владеющих навыками проведения анализа методом капиллярного электрофореза и изучивших инструкции по эксплуатации используемой аппаратуры.

7 Условия измерений

При выполнении измерений в лаборатории соблюдают следующие условия:

температура окружающего воздуха $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$;
 атмосферное давление $(84,0 - 106,3)$ кПа;
 относительная влажность воздуха $(30-80)$ %;
 напряжение переменного тока $(220 \pm \frac{22}{33})$ В;
 частота переменного тока (50 ± 1) Гц.

8 Отбор проб

Отбор проб для анализа по ГОСТ Р 51144-98 «Продукты винодельческой промышленности. Правила приёмки и методы отбора проб».

9 Подготовка к выполнению измерений

Подготовку прибора к работе проводят в соответствии с инструкцией по его эксплуатации.

9.1 Приготовление буферного (ведущего электролита) и вспомогательных растворов

9.1.1 Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрации $1,0$ моль/дм³ для промывки капилляра

Навеску гидроксида натрия массой 4 г помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в $50-60$ см³ деионизированной воды, доводят объем раствора до метки деионизированной водой и перемешивают.

Раствор хранят в емкости из полиэтилена с плотно закрывающейся крышечкой не более 2 месяцев.

9.1.2 Приготовление раствора соляной кислоты с массовой долей 3,5 %

В мерную колбу вместимостью 100 см³ с пришлифованной пробкой вносят $8,3$ см³ соляной кислоты плотностью $1,18$ г/см³, затем добавляют деионизированную воду до метки и перемешивают.

Срок хранения до 6 месяцев.

9.1.3 Приготовление водно-спиртового раствора с объемной долей этилового спирта 10 %

В мерную колбу вместимостью 100 см³ наливают 10 см³ спирта этилового ректифицированного, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, раствор перемешивают и выдерживают при 20 °С в течение 25 мин.

Срок хранения в герметично закрытой посуде до 6 месяцев.

9.1.4 Приготовление рабочего буферного раствора (ведущего электролита)

9.1.4.1 Приготовление раствора бихромата калия с молярной концентрацией 10 ммоль/дм³

В стакан вместимостью 25 см³ вносят навеску $0,074$ г бихромата калия. В стакан добавляют 15 см³ деионизированной воды и перемешивают до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки деионизированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора при комнатной температуре не более 2 недель.

9.1.4.2 Приготовление раствора тетраметилэтилендиамина с молярной концентрацией 10 ммоль/дм³

В стакан вместимостью 25 см³ вносят навеску $0,046$ г тетраметилэтилендиамина. В стакан добавляют 15 см³ деионизированной воды и перемешивают до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки деионизированной водой и тщательно перемешивают. Срок хранения раствора при комнатной температуре не более 2 недель.

Рабочий буферный раствор (ведущий электролит) (концентрация каждого компонента 5 ммоль/дм³) готовят следующим образом: смешать полученные растворы бихромата калия и тетраметилэтилендиамина в соотношении 1:1, в объеме достаточном для проведения измерений в течение одного рабочего дня.

Все растворы фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор не более $0,45$ мкм. Все растворы хранят в плотно закрытой посуде из полимерного материала.

9.2 Приготовление градуировочных растворов

9.2.1 Приготовление исходного раствора ионов массовой концентрацией 100 мг/дм³

В мерную колбу вместимостью 50 см³ с пришлифованной пробкой вносят по 5 см³ ГСО водных растворов анионов, доводят объем раствора в колбе до метки 10%-ным водно-спиртовым раствором, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в плотно закрытой посуде из полимерного материала при температуре 4-6 °С не более 3 месяцев.

9.2.1 Приготовление рабочих градуировочных растворов (массовой концентрацией 1, 10 и 50 мг/дм³)

В три мерные колбы со шлифом вместимостью 100 см³ шпательками вносят соответственно по 1, 10 и 50 см³ раствора ионов по 9.2.1, затем доводят объемы растворов в колбах до метки 10%-ным водно-спиртовым раствором, тщательно перемешивают. Срок хранения раствора в плотно закрытой посуде из полимерного материала при температуре 4-6 °С не более 14 дней.

Перед применением градуировочные растворы отбирают мерной шпателькой в объеме 0,8 см³ в пробирки Эппендорфа и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин для удаления растворенного воздуха.

9.3 Режимные параметры и порядок проведения анализа

9.3.1 Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие режимные параметры:

- длина волны 254 нм;
- напряжение -25 кВ;
- ввод пробы пневматический;
- давление ввода пробы - 30 мБар;
- время ввода пробы - 5с;
- время анализа 15 мин;
- буферного раствора (ведущего электролита) - см. 9.1.4;
- рекомендуется термостатирование капилляра при температуре 20 °С.

Допускается проведение анализа в других условиях выполнения измерений, обеспечивающих разделение и последовательность выхода ионов, аналогичное приведенному на электрофореграмме (рисунок 1).

9.4 Ежедневная подготовка капилляра к работе

Подготовку нового капилляра к работе проводят в соответствии с руководством по его эксплуатации.

Перед началом работы капилляр (при включении прибора) промывают 3,5% раствором соляной кислоты (приготовленной по 9.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой - 3 мин, затем 4% раствором гидроксида натрия (приготовленного по 9.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим буферным раствором (ведущим электролитом, приготавливаемым по 9.1.4) в течение 3 мин.

Повторение начальной промывки проводят:

- при загрязнении капилляра (проявляется в сильном искажении электрофореграммы);
- если времена миграции определяемых анионов отличаются более чем на 5 % от градуировочных характеристик.

Между анализами капилляр промывают рабочим буфером в течение 2 мин.

Уровни жидкости в виалах с электролитом на входе и выходе капилляра должны быть одинаковыми. Содержимое одной пробирки с рабочим буферным раствором можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

По окончании работы капилляр промывают раствором гидроксида натрия, приготовленным по 9.1.1, в течение 15 мин. После промывки концы капилляра опускают в виалы с деионизированной водой.

9.5 Градуировка прибора

Прибор градуируют по искусственным смесям методом абсолютной градуировки.

Градуировку прибора проводят после промывки капилляра буферным раствором, приготовленным по 9.1.4, в течение 20 мин. Градуировку прибора выполняют, используя три градуировочные смеси, приготовленные по 9.2.1. Записывают электрофореграммы анализа каждой градуировочной смеси. Регистрируют время удерживания и площади пиков определяемых анионов. Измерения выполняют не менее двух раз в режимных параметрах, установленных по 9.3.1. Типовая электрофореграмма анализа градуировочной смеси для определения содержания анионов в винодельческой продукции приведена на рисунке 1.

Градуировочную характеристику получают, обрабатывая полученные экспериментальные данные методом наименьших квадратов при помощи программного обеспечения. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99.

Прибор градуируют заново при следующих условиях:

- смене капилляра;
- при использовании новой партии буферного раствора (ведущего электролита);
- изменении рабочих параметров прибора;
- отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

Примеры электрофореграмм приведены в приложении А.

9.6 Подготовка образца

Исследуемый образец разбавляют деионизированной водой до концентрации ионов не более 1000 мг/дм³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин.

10 Выполнение измерений

Подготовленный образец помещают в устройство для ввода проб в прибор и проводят измерения в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора в режимных параметрах, установленных по 9.3.1.

Регистрируют пики в области времени миграции, соответствующей каждому компоненту градуировочной смеси. Образец анализируют два раза в условиях повторяемости. Для количественного расчета данных составляют калибровочный массив по методу абсолютной градуировки.

В случае затруднения идентификации анионов, рекомендуется использовать метод добавок. Для этого в анализируемую пробу вносят раствор идентифицируемого иона (хлорид-, нитриг-, нитрат- или сульфат-иона) с расчетом увеличения концентрации на 100–50 % и измерение повторяют. Увеличение высоты соответствующего пика свидетельствует о правильной идентификации.

11 Обработка и оформление результатов измерений

11.1 Используя электрофореграмму, зарегистрированную по 10, при помощи программного обеспечения к прибору рассчитывают массовую концентрацию иона по установленной градуировочной зависимости (9.5). Массовую концентрацию (мг/дм^3) в исследуемой пробе (X) вычисляют по формуле:

$$X = k \cdot C, \quad (1)$$

где k – коэффициент разбавления пробы;

C – концентрация иона, найденная по градуировочному графику, мг/дм^3 .

11.2 За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (2)

$$\frac{2 \cdot |X_{i1} - X_{i2}| \cdot 100}{(X_{i1} + X_{i2})} \leq r_i, \quad (2)$$

где X_{i1} , X_{i2} – результаты параллельных определений массовой концентрации i -го иона, мг/дм^3 ;

r_i – значение предела повторяемости i -го иона, % (Таблица 1).

11.2 Если условие (2) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной МВИ. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие (3)

$$\frac{4 \cdot |X_{i\max} - X_{i\min}| \cdot 100}{(X_{i1} + X_{i2} + X_{i3} + X_{i4})} \leq CR_{0,95}, \quad (3)$$

где $X_{i\max}$, $X_{i\min}$ – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации i -го иона, мг/дм^3 ;

$CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня вероятности $P=0,95$ и n – результатов определений.

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_{ri}$$

Для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_{ri}, \quad (4)$$

где σ_{ri} – показатель повторяемости i -го иона, % (Таблица 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

11.3 Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\bar{X}_i \pm 0,01 \cdot \delta_i \cdot \bar{X}_i, \text{ при } P=0,95,$$

где \bar{X}_i – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по 11.2, 11.3, мг/дм^3 ;

δ_i – границы относительной погрешности измерений i -го иона, %.

В случае, если содержание i -го иона ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, производят следующую запись в журнале: "массовая концентрация i -го иона менее _____ мг/дм^3 "

(более мг/дм^3)¹⁰.

12 Контроль качества результатов измерений, при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений», используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности по 6.2.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

Приложение А (обязательное)

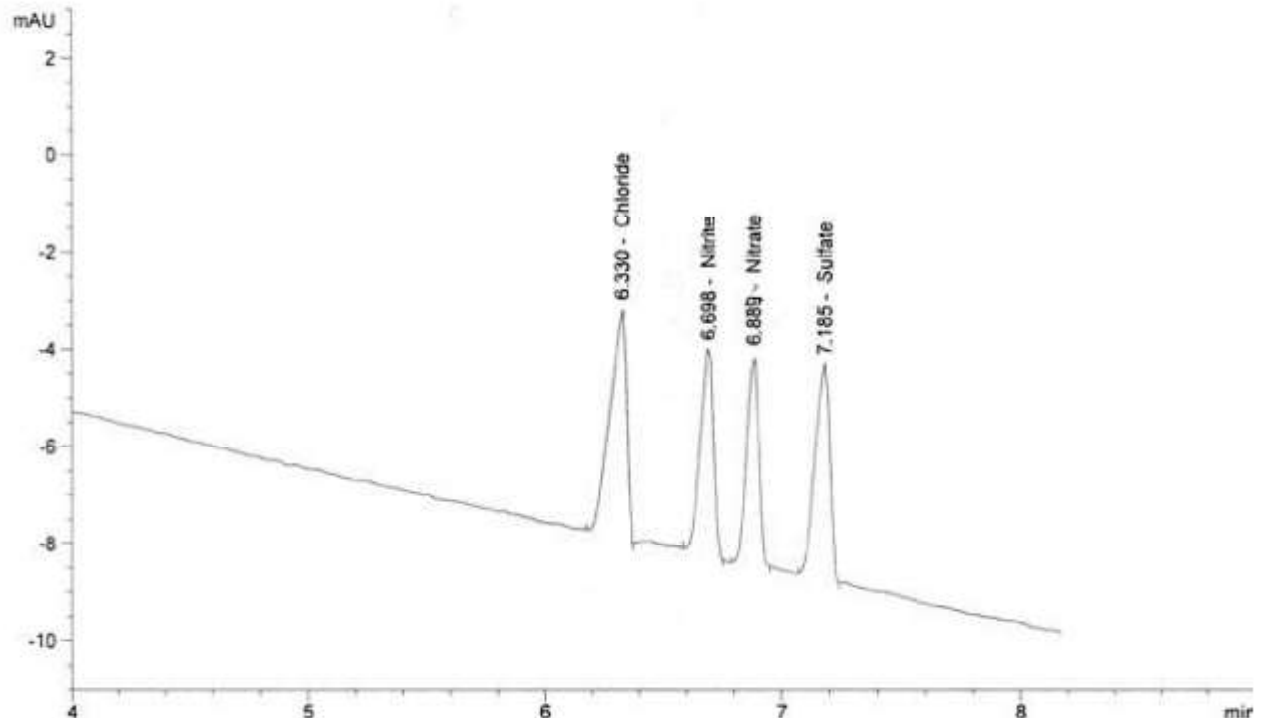


Рисунок 1 – Электрофореграмма градуировочного раствора ионов: хлорид-иона 50 мг/дм^3 , нитрит-иона 50 мг/дм^3 , нитрат-иона 50 мг/дм^3 и сульфат-иона 50 мг/дм^3 .

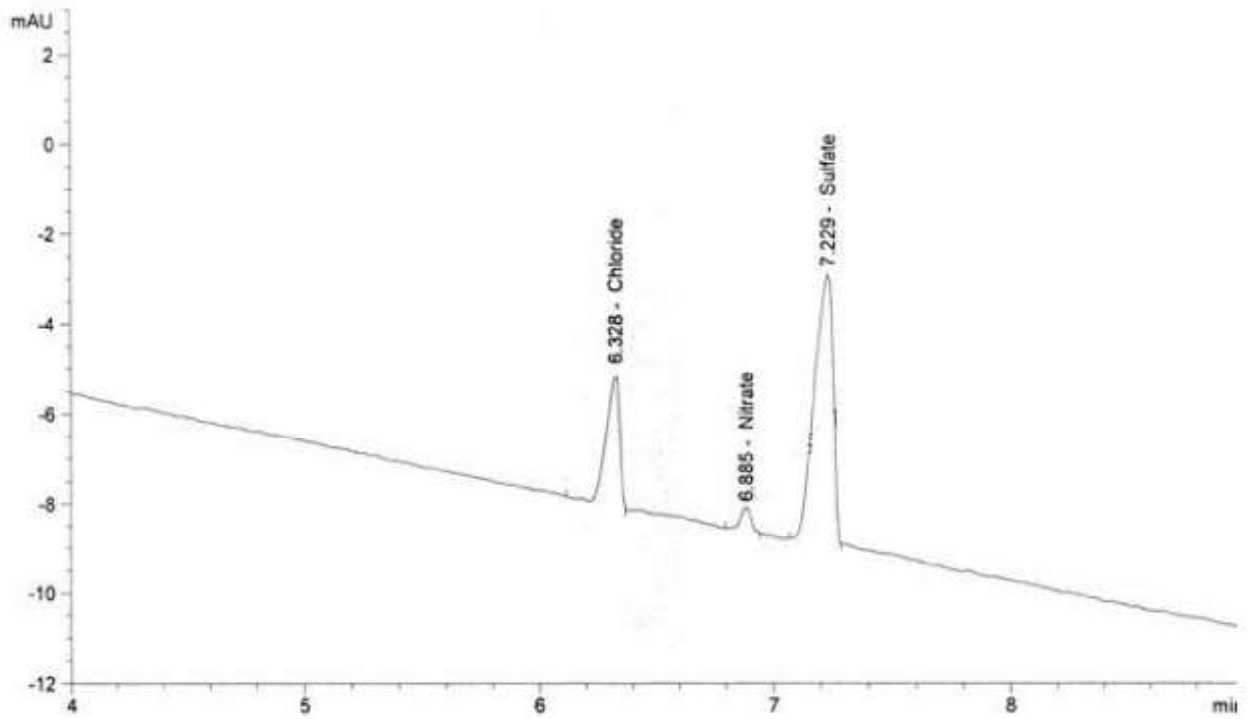


Рисунок 2 - Электрофориграмма образца виноматериала столового сухого белого (разбавление в 4 раза), содержащего ионы: хлорид-иона 109,73 мг/дм³, нитрат-иона 20,54 мг/дм³, сульфат-иона 346,98 мг/дм³.

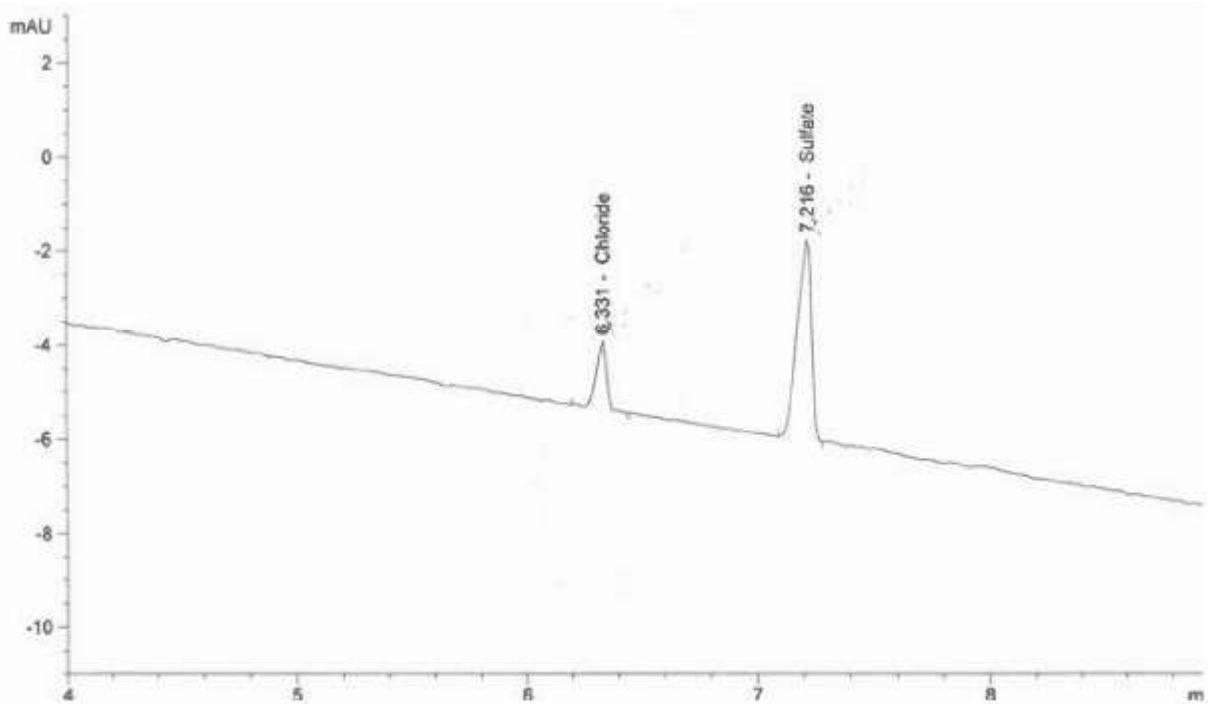


Рисунок 3 - Электрофориграмма образца виноматериала столового сухого красного (разбавление в 4 раза), содержащего ионы: хлорид-иона 50,12 мг/дм³, сульфат-иона 197,06 мг/дм³.



ВНИИМС

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ
РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ**

119361 Москва, Озёрная ул., д. 46 E-mail: analyt-vm@vniims.ru

Тел. (495) 437 9419

Факс: (495) 437 5666

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 60-10

ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРИД-, НИТРИТ-, НИТРАТ-, СУЛЬФАТ-ИОНОВ В ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Методика выполнения измерений массовой концентрации хлорид-, нитрит-, нитрат-, сульфат-ионов в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза, разработанная Государственным научным учреждением "Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности" Российской академии сельскохозяйственных наук, Государственным научным учреждением Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук, аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96, ГОСТ Р ИСО 5725-2002.

Аттестация осуществлена по результатам экспериментальных исследований МВИ.

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает основными метрологическими характеристиками, приведенными на обороте настоящего свидетельства.

При реализации методики в лаборатории обеспечивают контроль стабильности результатов анализа на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности и показателя правильности.

Дата выдачи 20 октября 2010 года

Заместитель директора



В.Н. Яншин

РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ АТТЕСТАЦИИ

Наименование иона	Диапазон измерений массовой концентрации, мг/дм ³	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости, r , % $P=0,95, n=2$
Хлорид	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7
Нитрит	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Нитрат	От 1,0 до 10 вкл.	17	5	8	14
	Св. 10 до 1000 вкл.	11	3	5	8
Сульфат	От 1,0 до 10 вкл.	15	4,5	7	12,5
	Св. 10 до 1000 вкл.	10	2,5	4	7

Начальник сектора



О.Л. Рутенберг

Инженер



Т.С. Коробко

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
52841—
2007

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Определение органических кислот
методом капиллярного электрофореза

Издание официальное

53 12—2007/468



Москва
Стандартинформ
2008

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» Россельхозакадемии (ГНУ «СКЗНИИСиВ» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 декабря 2007 г. № 470-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартиформ, 2008

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

II

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Требования безопасности	2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы	2
5 Отбор проб	2
6 Сущность метода	3
7 Метрологические характеристики	3
7.1 Диапазон измерения	3
7.2 Прецизионность метода	3
8 Требования к условиям выполнения измерений	3
9 Подготовка к выполнению измерений	3
9.1 Приготовление буферных и вспомогательных растворов	3
9.2 Подготовка прибора и порядок проведения анализа	4
9.3 Приготовление градуировочных растворов	4
10 Проведение измерений	5
11 Обработка и оформление результатов измерений	5
Приложение А (справочное) Электрофореграммы стандартного раствора органических кислот и образца винопродукции	6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Определение органических кислот
методом капиллярного электрофореза

Wine production.
Determination of organic acids by capillary electrophoresis method

Дата введения — 2009—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на винодельческую продукцию и устанавливает метод определения содержания органических кислот — винной, яблочной, янтарной, лимонной и молочной в диапазоне измерений с учетом разбавления от 0,001 до 0,050 г/дм³ на основе измерения их массовых концентраций посредством капиллярного электрофореза.

Требования к контролируемым показателям по массовой концентрации лимонной кислоты установлены в ГОСТ Р 52404, ГОСТ Р 52523 и ГОСТ Р 52558.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-3—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений

ГОСТ Р 51144—98 Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 52404—2005 Вина специальные и виноматериалы специальные

ГОСТ Р 52523—2006 Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия

ГОСТ Р 52558—2006 Вина газированные и вина газированные жемчужные. Общие технические условия

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

П р и м е ч а н и е — При использовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет, который опубликован по

Издание официальное

1

состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования безопасности

3.1 Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.1.019.

3.2 При выполнении анализов необходимо выполнять требования безопасности при работе с химическими реактивами согласно ГОСТ 12.1.007.

3.3 К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера, прошедшие соответствующий курс обучения, или лица, имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

Прибор (система) капиллярного электрофореза, оснащенный кварцевым капилляром длиной не менее 50 см до детектора, внутренним диаметром 75 мкм, фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, или спектрофотометрическим детектором в интервале длин волн от 200 до 300 нм и электронно-вычислительной машиной (компьютером) с программным обеспечением для обработки электрофореграмм, например система капиллярного электрофореза «Капель» (НПФ Люмэкс).

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,0002$ г.

Пипетки мерные 2-го класса точности по ГОСТ 29227.

Колбы мерные 2-го класса точности по ГОСТ 1770.

Пробирки одноразовые (типа Эппендорфа) вместимостью 1,5 см³.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Кислота винная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %¹⁾.

Кислота яблочная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %²⁾.

Кислота янтарная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %³⁾.

Кислота лимонная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %⁴⁾.

Лактат лития с содержанием основного вещества не менее 95,0 %⁵⁾.

Кислота дипиколиновая с содержанием основного вещества не менее 99,0 %⁶⁾.

Тетраметилэтилендиамин с содержанием основного вещества не менее 99,5 %⁷⁾.

Этилендиаминдиуксусная кислота с содержанием основного вещества не менее 99,0 %⁸⁾.

Примечание — Средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается использовать средства измерений, вспомогательное оборудование и реактивы с аналогичными или лучшими метрологическими характеристиками.

5 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ Р 51144.

¹⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу T206-25G, D-tartaric acid, 99 %).

²⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 112577-25G, L-malic acid, 99 %).

³⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 27616-250G, Succinic acid, 99 %).

⁴⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу C1857-100G, Citric acid anhydrous, 99 %).

⁵⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 440469-50G, Lithium lactate, 95 %).

⁶⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу D0759-25G, Dipicolinic acid, 99 %).

⁷⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 411019-100ML, N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, 99,5 %).

⁸⁾ Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 03575-5G, Ethylenediamine-N,N'-diacetic acid, 99 %).

6 Сущность метода

Метод капиллярного электрофореза определения массовой концентрации органических кислот основан на миграции и разделении анионных форм анализируемых компонентов под действием электрического поля вследствие их различной электрофоретической подвижности. Для детектирования кислот используют косвенный метод, регистрируя поглощение в ультрафиолетовой области спектра при 254 или 270 нм.

7 Метрологические характеристики

7.1 Диапазон измерения

Диапазон измеряемых концентраций с учетом разбавления — от 0,001 до 0,050 г/дм³.

7.2 Прецизионность метода

Показатели прецизионности метода определены в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-2, ГОСТ Р ИСО 5725-3 и представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1 — Показатели прецизионности метода определения массовых концентраций органических кислот

Наименование показателя	Значение показателя
Диапазон измерений, г/дм ³	0,001—0,05
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r , %	4
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R , %	10
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений) r , %, $P = 0,95$, $n = 2$	12
Предел воспроизводимости R , %, $P = 0,95$, $n = 2$	28
Границы относительной погрешности при вероятности $\pm \delta$, %, $P = 0,95$, $n = 2$	20

8 Требования к условиям выполнения измерений

Подготовку проб и измерения проводят в лабораторных условиях при температуре окружающего воздуха (23 ± 5) °С, атмосферном давлении от 87 до 107 кПа, относительной влажности воздуха не более 80 % при температуре 25 °С, частоте переменного тока ($50,0 \pm 0,4$) Гц, напряжении в сети 220 В.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Приготовление буферных и вспомогательных растворов

9.1.1 Раствор гидроксида натрия массовой долей 4 %

В 50 — 60 см³ дистиллированной воды растворяют 4 г гидроксида натрия. По окончании растворения разбавляют дистиллированной водой до объема 100 см³. Срок хранения в сосуде из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой — 2 мес.

9.1.2 Раствор соляной кислоты массовой долей 3,5 %

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 8,3 см³ соляной кислоты плотностью 1,18 г/см³, затем добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают. Срок хранения не ограничен.

9.1.3 Раствор дипиколиновой кислоты массовой долей 0,21 %

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,105 г дипиколиновой кислоты с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 40 см³ горячей (температурой не более 90 °С) дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается выдерживание раствора в стакане на водяной бане при температуре не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.4 Раствор тетраметилэтилендиамина массовой долей 2,32 %

В стакан вместимостью 25 см³ отбирают навеску 0,580 г тетраметилэтилендиамина с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 10 см³ дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой. Затем раствор переносят в мерную колбу с притрифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.5 Раствор этилендиаминдиуксусной кислоты массовой долей 0,176 %

В стакан вместимостью 25 см³ отбирают навеску 0,044 г этилендиаминдиуксусной кислоты с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 10 см³ горячей (температурой не более 90 °С) дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается выдерживание раствора в стакане на водяной бане при температуре не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, переносят в мерную колбу с притрифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.6 Рабочий буферный раствор

Раствор диликолиновой кислоты по 9.1.3, раствор тетраметилэтилендиамина по 9.1.4, раствор этилендиаминдиуксусной кислоты по 9.1.5 смешивают в объемном соотношении 8:1:1. Полученный рабочий буферный раствор помещают в пробирки Эппендорфа в количестве 0,8 см³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин; не допускают хранение рабочего буферного раствора более 2 сут с момента приготовления при нормальных условиях. Исходные растворы (по 9.1.3, 9.1.4, 9.1.5) хранят при комнатной температуре в плотно закрытых стеклянных емкостях не более 10 сут с момента приготовления.

9.2 Подготовка прибора и порядок проведения анализа

Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие рабочие параметры:

- длина волны спектрофотометрического детектора — 270 нм, фотометрического — 254 нм;
- напряжение «минус 25 кВ»;
- дозирование пробы — пневматическое при 30 мБар в течение 5 с при напряжении 0 кВ;
- время анализа — 15 мин;
- рекомендуется термостатирование капилляра при температуре 20 °С.

Перед измерением подготавливают капилляр к работе, промывая его 3,5 %-ным раствором соляной кислоты (см. 9.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой — 3 мин, затем 4 %-ным раствором гидроксида натрия (см. 9.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим буферным раствором (см. 9.1.6) в течение 3 мин.

Капилляр промывают каждый раз при включении прибора. Результаты первого измерения отбрасывают. Содержимое одной пробирки с рабочим буферным раствором можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

9.3 Приготовление градуировочных растворов

9.3.1 Основной градуировочный раствор смеси кислот концентрацией 1 г/дм³

Отбирают навески винной, яблочной, янтарной, лимонной кислот массов 0,100 г каждую (для моногидрата лимонной кислоты навеска составляет 0,109 г), лактата лития массой 0,117 г с точностью 0,001 г и вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, добавляют 50—70 см³ дистиллированной воды, растворяют содержимое и затем доводят до метки. Срок хранения основного градуировочного раствора — не более 1 мес в стеклянной таре с притрифованной пробкой при температуре 2 °С—8 °С.

9.3.2 Рабочие градуировочные растворы (массовой концентрацией 0,001, 0,005, 0,010, 0,025 и 0,050 г/дм³) готовят из основного градуировочного раствора по 9.3.1. Для этого вносят в пять мерных колб (с притрифованными пробками) вместимостью 1000 см³ пипетками 1, 5, 10, 25 и 50 см³ основного градуировочного раствора, соответственно, затем доводят объемы растворов в колбах до метки дистиллированной водой, закрывают колбы пробками и тщательно перемешивают. Срок хранения растворов не более двух суток в стеклянной таре с притрифованной пробкой при температуре 2 °С—8 °С.

9.3.3 Градуировочные растворы концентрацией 0,001, 0,005, 0,010, 0,025, 0,050 г/дм³ отбирают мерной пипеткой в объеме 0,8 см³ в пробирку Эппендорфа и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин для удаления растворенного воздуха. Проводят измерение по 9.2. На основе полученных данных строят градуировочные зависимости. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99. Градуировка системы обязательно проводится заново в следующих случаях:

- при замене капилляра;
- при замене хотя бы одного из компонентов буферного раствора;
- при изменении рабочего напряжения;

при изменении времени ввода пробы и давления ввода;
при отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.
Примеры электрофореграмм приведены в приложении А.

9.3.4 Приготовление раствора для контроля стабильности градуировочной характеристики

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят навески винной и лимонной кислот по 0,05 г каждой, разбавляют до метки дистиллированной водой и перемешивают. Массовая концентрация винной и лимонной кислот — 0,05 г/дм³. Срок хранения раствора — 1 мес при температуре 2 °С—8 °С. Контрольный раствор используют для проверки работоспособности прибора и контроля стабильности градуировочной характеристики.

10 Проведение измерений

Перед проведением измерений по 9.2 исследуемые пробы разбавляют в 50—100 раз дистиллированной водой до концентрации анализируемых кислот не более 0,050 г/дм³ и центрифугируют. В случае необходимости идентификации какой-либо из кислот следует добавить эту кислоту в анализируемый образец и выполнить измерение повторно.

11 Обработка и оформление результатов измерений

11.1 Используя электрофореграмму, зарегистрированную при помощи программного обеспечения к прибору, рассчитывают массовую концентрацию соответствующих кислот по установленным градуировочным характеристикам (см. 9.3.3).

Массовую концентрацию органических кислот в исследуемой пробе X , г/дм³, вычисляют по формуле

$$X = k \cdot C, \quad (1)$$

где k — коэффициент разбавления пробы (см. раздел 9);

C — концентрация кислоты, найденная по градуировочному графику, г/дм³.

11.2 За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение X_{cp} , г/дм³, двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{X_1 - X_2}{X_{cp}} 100 \leq r, \quad (2)$$

где X_1, X_2 — результаты двух параллельных измерений массовой концентрации кислоты в пробе, г/дм³;

X_{cp} — среднее значение двух параллельных измерений массовой концентрации кислоты в пробе, г/дм³;

r — значение предела повторяемости (см. таблицу 1), %.

11.3 Результат анализа представляют в виде: $X_{cp} \pm \Delta$ г/дм³,

где X_{cp} — среднеарифметическое значение двух определений массовой концентрации кислоты в пробе, признанных приемлемыми, г/дм³;

Δ — граница абсолютной погрешности определения, г/дм³, при доверительной вероятности $P = 0,95$.

11.4 Границу абсолютной погрешности Δ вычисляют по формуле

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100} \quad (3)$$

где δ — граница относительной погрешности измерения (см. таблицу 1), %.

Числовое значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности.

Приложение А
(справочное)

Электрофореграммы стандартного раствора органических кислот
и образца винопродукции

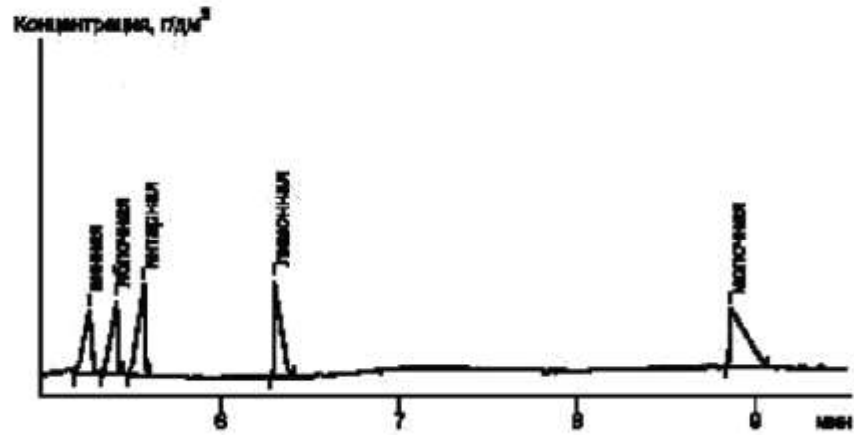


Рисунок А.1 — Электрофореграмма стандартного раствора кислот, с концентрацией 0,05 г/дм³

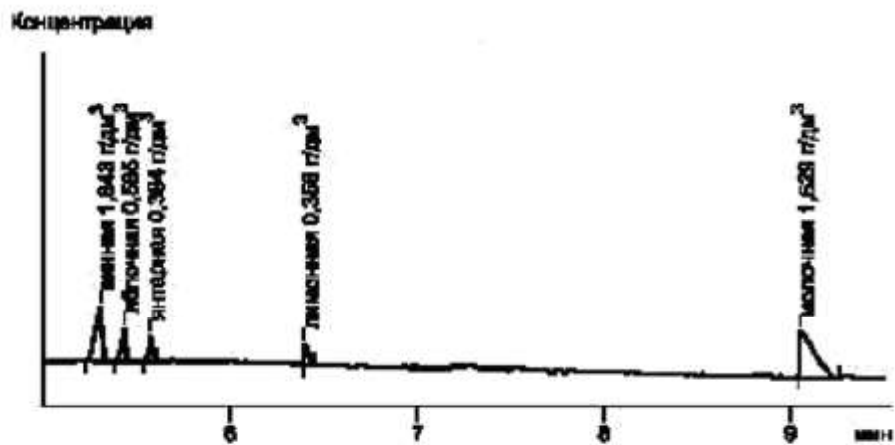


Рисунок А.2 — Электрофореграмма образца винопродукции

П р и м е ч а н и е — На электрофореграммах возможно появление пиков неидентифицированных кислот, не мешающих проведению количественного анализа.

УДК 663.2.001.4:006.354

ОКС 67.160.10

И79

Ключевые слова: продукция винодельческая, органические кислоты, буферный раствор, капиллярный электрофорез, электрофореграмма

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 03.03.2008. Подписано в печать 19.03.2008. Формат 60 × 84 $\frac{1}{8}$. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,95. Тираж 283 экз. Зак. 271.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.

Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

Приложение А-4

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ЗОНАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
САДОВОДСТВА И ВИНОГРАДАРСТВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
(ГНУ СКЗНИИСИВ РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ)



**СТАНДАРТ
ОРГАНИЗАЦИИ**

**СТО
00668034-002
2012**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ, ПРОДУКТЫ
ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ВИНОГРАДА**

**Определение массовой концентрации общего
фосфора методом высокоэффективного
капиллярного электрофореза**

Краснодар
2012

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом «О техническом регулировании» №184-ФЗ от 27 декабря 2002 г., ГОСТ Р 1.4-2004 «Стандарты организаций. Общие положения»

Сведения о стандарте

- 1 РАЗРАБОТАН проблемно-исследовательской лабораторией
ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии
- 2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом директора
ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии № от 2012 г.
- 3 В настоящем стандарте реализованы положения Федерального закона
«О техническом регулировании» № 184–ФЗ от 27.12.2002 г., ст. 11-13, 17
- 4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального документа без разрешения ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии

Содержание

1 Область применения.....	4
2 Нормативные ссылки.....	5
3 Средства измерений, оборудование и реактивы	6
4 Отбор проб.....	7
5 Порядок подготовки к проведению измерений.....	7
6 Приготовление образцов для градуировки прибора.....	8
7 Порядок проведения испытаний.....	9
8 Обработка и оформление результатов измерений.....	10
9 Прецизионность метода.....	11
10 Требования безопасности работ.....	11
11 Требования к квалификации оператора.....	11
12 Приложение А Электрофореграмма градуировочного фосфата.....	12

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

**Биологические объекты, продукты переработки
плодов и винограда****Определение массовой концентрации общего фосфора методом
высокоэффективного капиллярного электрофореза**

Biological objects, products procession of fruits and grape
Determination of the mass concentration of total phosphorus
by high performance capillary electrophoresis

2 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на биологические объекты и продукты переработки плодов и винограда и устанавливает метод определения массовой концентрации общего фосфора методом капиллярного электрофореза. Диапазон измеряемых концентраций от 5 до 500 мг/дм³. Если концентрация превышает верхнюю границу диапазона измерений, то допускается разбавление проб дистиллированной водой, но не более чем в 10 раз. Метод основан на получении электрофореграммы с помощью косвенного детектирования непоглощающих компонентов пробы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 177-88 Водорода перекись. Технические условия

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная: цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Технические условия

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 14919-83 Электроплиты, электроплитки и жаропрочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при использовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Средства измерений, оборудование и реактивы

Система капиллярного электрофореза или анализатор капиллярный ионный электрофоретический (далее - прибор капиллярного электрофореза или прибор), оснащенный ультрафиолетовым фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, или спектрофотометрический детектор с перестраиваемой длиной волны излучения в области 200 – 400 нм, кварцевым капилляром, длиной не менее 0,5 м до детектора, внутренним диаметром от 50 до 100 мкм, источником высокого напряжения отрицательной полярности с регулируемым напряжением от 1 до 25кВ и персональным компьютером с соответствующим программным обеспечением для сбора и обработки информации, например, система капиллярного электрофореза «Капель» (номер Госреестра средств измерений 17727-01).

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1; 2; 5 см³ по ГОСТ

29227.

Весы по ГОСТ Р 53228-2008

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 см³ по ГОСТ 1770.

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328, х.ч.

Калия гидроксид по ГОСТ 24363.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

Хромат калия по действующей нормативной или технической документации, ч.д.а. или х.ч.

Уротропин по действующей нормативной или технической документации, ч.д.а. или х.ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Примечание – средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается использовать средства измерений, стандартные образцы, вспомогательное оборудование с аппаратуру и мерные средства измерения с аналогичными или лучшими метрологическими характеристиками.

4 Отбор проб

Отбор пробы материала производится в установленном порядке.

5 Порядок подготовки к проведению измерений

5.1 Приготовление растворов

Все растворы готовят на дистиллированной воде, соответствующей ГОСТ 6709.

5.1.1 Раствор гидроксида натрия, молярная концентрация 0,5 моль/дм³

В 50-60 см³ дистиллированной воды растворяют 2 г гидроксида натрия. По окончании растворения разбавляют дистиллированной водой до объема 100 см³. Срок хранения в сосуде из полиэтилена с плотно закручивающейся крышкой - 2 месяца.

5.1.2 Раствор соляной кислоты, молярная концентрация 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 8,3 см³ соляной кислоты, а затем разбавляют дистиллированной водой до 100 см³ и перемешивают. Срок хранения не ограничен.

5.1.3 Приготовление растворов, входящих в состав ведущего электролита

5.1.4 Раствор хромата калия, массовой концентрацией 0,8%.

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,400 г хромата калия с точностью 0,001г. В стакан добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор количественно переносят

в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

5.1.5 Раствор уротропина, массовой концентрацией 1,6 %.

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,800 г уротропина с точностью 0,001г. В стакан добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

5.2 Приготовление рабочего раствора электролита для определения фосфата

Раствор хромата калия по 5.1.4, раствор уротропина по 5.1.5 смешивают в объемном соотношении 1:1. Полученный рабочий электролит помещают в пробирки Эппендорфа в количестве 0,8 см³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин; не допускают хранение рабочего электролита более 2 сут с момента приготовления при нормальных условиях. Исходные растворы хранят при комнатной температуре в плотно закрытых стеклянных емкостях не более 10 сут с момента приготовления.

5.3. Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие рабочие параметры:

- Отрицательное напряжение 16кВ
- время анализа – 20 мин;
- ввод пробы – пневматический, 30мБар в течение 5сек
- температура термостата капилляра – 24°C
- Длина волны детектирования – 254 нм

6 Приготовление образцов для градуировки прибора

6.1. Перед измерениями подготавливают капилляр к работе, промывая его 3,5% раствором соляной кислоты (по 5.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой – 3 мин, затем 4% раствором гидроокиси натрия (по 5.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим электролитом (по 5.2) в течение 3 мин. Капилляр промывают каждый раз при включении прибора. Между анализами капилляр промывают рабочим электролитом в течение 2 мин. При загрязнении капилляра, что проявляется в сильном искажении электрофореграммы, допускается повторение начальной промывки.

6.2. Готовят раствор фосфата, используя ГСО фосфат-иона, концентрацией 5, 10, 100

мг/дм³ в дистиллированной воде.

6.3. Градуировка прибора

Градуировку прибора проводят не реже одного раза в месяц, а также при замене капилляра, исходных растворов реактивов, использующихся для приготовления ведущего электролита, после ремонта прибора, а также при неудовлетворительных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

Процедуры градуировки и анализа исследуемых проб должны проводиться на одной длине волны.

Первое измерение на каждой порции электролита повторяют не менее 2 раз. При значительном расхождении результатов первый отбрасывают. Содержимое одной пробирки с рабочим электролитом можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

Проводят измерение по 5.3. Градуировочную характеристику получают, обрабатывая полученные экспериментальные данные при помощи программного обеспечения. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99.

7 Порядок проведения испытаний

Перед каждым измерением капилляр промывают раствором соляной кислоты в течение 2 мин, дистиллированной водой - 2 мин, раствором гидроксида натрия – 2 мин и дистиллированной водой в течение 2 мин. После этого капилляр промывают рабочим раствором в течение 3 мин.

В случае необходимости идентификации используют метод добавки и выполняют измерение повторно.

Дозируют в прибор анализируемую пробу не менее двух раз и регистрируют электрофореграммы для каждого ввода. Условия регистрации электрофореграмм проб должны соответствовать условиям регистрации электрофореграмм градуировочных растворов [п.5.3]. Пример электрофореграммы градуировочного раствора показан на рисунке приложения А.

8 Обработка и оформление результатов измерений

Используя электрофореграмму, зарегистрированную по 5, при помощи программного обеспечения к прибору рассчитывают массовую концентрацию компонента по установленным градуировочным характеристикам [п.6]. Массовую концентрацию фосфата в исследуемой пробе (X) вычисляют по формуле:

$$X = k \cdot C, \quad [1] \text{ мг/дм}^3$$

где k – коэффициент разбавления пробы, определяемый следующим образом: $k = M/m$ (M – объем пробы; m – объем образца, взятого на испытание),

C – концентрация компонента, найденная по градуировочному графику, мг/дм³

Результат измерения представляют в виде: $X \pm \Delta$ мг/дм³,

где X – Концентрация компонента в пробе, мг/дм³;

Δ – граница абсолютной погрешности определения, мг/дм³, при доверительной вероятности $P=0,95$.

Границу абсолютной погрешности Δ вычисляют по формуле

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100} \quad [2]$$

где δ – граница относительной погрешности измерения (таблица), %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Численное значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности. При необходимости осуществляют пересчет полученной концентрации фосфата на общий фосфор, используя множитель 0,326.

9 Прецизионность метода

Таблица – Показатели прецизионности метода определения массовой концентрации общего фосфора

Диапазон измерений, мг/дм ³	5–500
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), δ_r , %	6
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), δ_R , %	15
Предел повторяемости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %, $P = 0,95$, $n = 2$	10
Предел воспроизводимости, R , %, $P = 0,95$, $n = 2$	20
Границы относительной погрешности при вероятности, $\pm \Delta$, %, $P = 0,95$, $n = 2$	16

10 Требования безопасности работ

При выполнении измерений массовой концентрации общего фосфора необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими

реактивами по ГОСТ 12.1.007. требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на прибор. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

11 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалиста, освоившего метод в процессе обучения и показавшего положительные результаты при контроле точности.

Приложение А

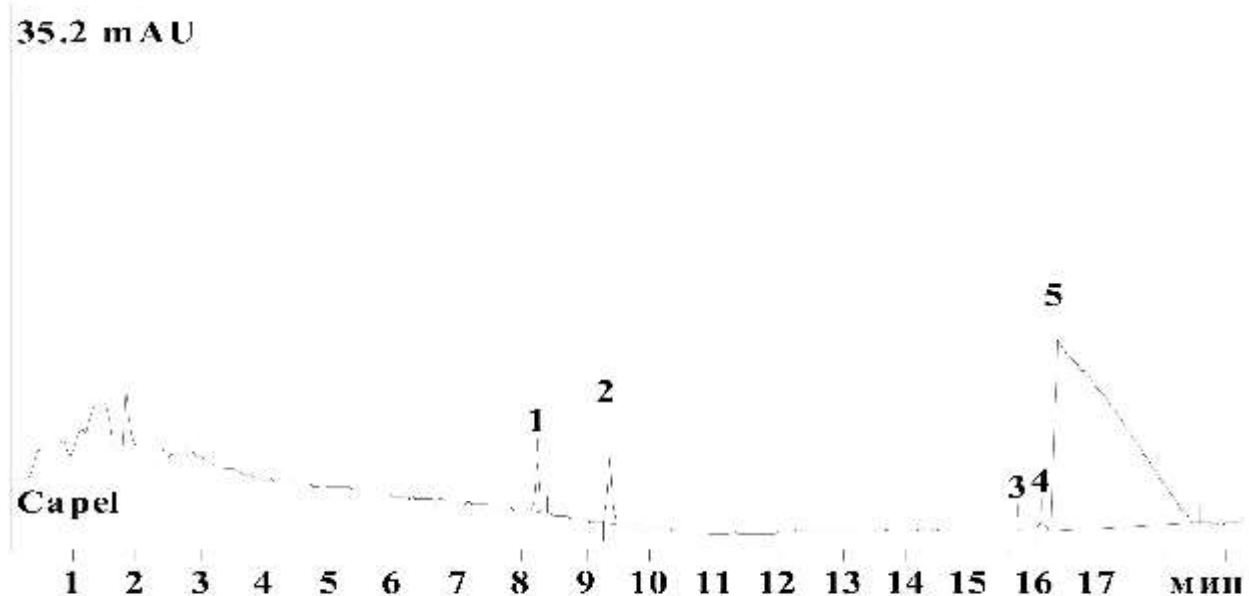


Рисунок – Электрофореграмма градуировочной смеси: 5 – фосфат

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, фосфор, градуировка, анализ

Разработано:

ГНУ Северо-Кавказский
зональный научно-исследовательский
институт садоводства и виноградарства
Российской академии
сельскохозяйственных наук

заведующий проблемно-исследовательской лабораторией,
к. техн. н., доц.

Ю.Ф. Якуба

Мл. науч. сотр. проблемно-исследовательской лаборатории

Я.В. Ушакова

Согласовано:

Зам. директора по НИР, д-р техн. наук, профессор



И.А. Ильина

Научный сотрудник УНИР, маркетолог-патентовед
канд. с.-х. наук

И.А. Мачнева

Приложение А-5

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ЗОНАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
САДОВОДСТВА И ВИНОГРАДАРСТВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
(ГНУ СКЗНИИСИВ РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ)



**СТАНДАРТ
ОРГАНИЗАЦИИ**

**СТО
00668034-025
2011**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ, ПРОДУКТЫ
ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ВИНОГРАДА**

**Определение массовой концентрации углеводов
методом высокоэффективного
капиллярного электрофореза**

Краснодар
2011

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом «О техническом регулировании» №184-ФЗ от 27 декабря 2002 г., ГОСТ Р 1.4-2004 «Стандарты организаций. Общие положения»

Сведения о стандарте

- 5 РАЗРАБОТАН проблемно-исследовательской лабораторией
ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии
- 6 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом директора
ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии № от 2011 г.
- 7 В настоящем стандарте реализованы положения Федерального закона
«О техническом регулировании» № 184–ФЗ от 27.12.2002 г., ст. 11-13, 17
- 8 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального документа без разрешения ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии

Содержание

1 Область применения.....	4
2 Нормативные ссылки.....	5
3 Средства измерений, оборудование и реактивы	6
4 Отбор проб.....	7
5 Порядок подготовки к проведению измерений.....	7
6 Приготовление образцов для градуировки прибора.....	8
7 Порядок проведения испытаний.....	9
8 Обработка и оформление результатов измерений.....	10
9 Прецизионность метода.....	11
10 Требования безопасности работ.....	11
11 Требования к квалификации оператора.....	11
12 Приложение А Электрофореграмма градуировочного раствора углеводов.....	12

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

**Биологические объекты, продукты переработки
плодов и винограда****Определение массовой концентрации углеводов методом высокоэффективного
капиллярного электрофореза**

Biological objects, products procession of fruits and grape
Determination of the mass concentration of carbonhydrates
by high performance capillary electrophoresis

2 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на биологические объекты и продукты переработки плодов и винограда и устанавливает метод определения массовой концентрации фруктозы, глюкозы, сахарозы методом капиллярного электрофореза. Диапазон измеряемых концентраций от 0,01 до 5 г/дм³. Если концентрация компонентов превышает верхнюю границу диапазона измерений, то допускается разбавление проб дистиллированной водой, но не более чем в 10 раз. Метод основан на получении электрофореграммы с помощью косвенного детектирования непоглощающих компонентов пробы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 177-88 Водорода перекись. Технические условия

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная: цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Технические условия

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроксид. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 14919-83 Электроплиты, электроплитки и жаропрочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при использовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Средства измерений, оборудование и реактивы

Система капиллярного электрофореза или анализатор капиллярный ионный электрофоретический (далее - прибор капиллярного электрофореза или прибор), оснащенный ультрафиолетовым фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, или спектрофотометрический детектор с перестраиваемой длиной волны излучения в области 200 – 400 нм, кварцевым капилляром, длиной не менее 0,5 м до детектора, внутренним диаметром от 50 до 100 мкм, источником высокого напряжения отрицательной полярности с регулируемым напряжением от 1 до 25кВ и

персональным компьютером с соответствующим программным обеспечением для сбора и обработки информации, например, система капиллярного электрофореза «Капель» (номер Госреестра средств измерений 17727-01).

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1; 2; 5 см³ по ГОСТ 29227.

Весы по ГОСТ Р 53228-2008

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 см³ по ГОСТ 1770.

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328, х.ч.

Калия гидроксид по ГОСТ 24363.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

ЦТАБ (цетил-триаммоний бромид) по действующей нормативной или технической документации, ч.д.а. или х.ч.

Сорбат калия по действующей нормативной или технической документации, ч.д.а. или х.ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Примечание – средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается использовать средства измерений, стандартные образцы, вспомогательное оборудование с аппаратуру и мерные средства измерения с аналогичными или лучшими метрологическими характеристиками.

4 Отбор проб

Отбор пробы материала производится в установленном порядке.

5 Порядок подготовки к проведению измерений

5.1 Приготовление растворов

Все растворы готовят на дистиллированной воде, соответствующей ГОСТ 6709.

5.1.1 Раствор гидроксида натрия, молярная концентрация 0,5 моль/дм³

В 50-60 см³ дистиллированной воды растворяют 2 г гидроксида натрия. По окончании растворения разбавляют дистиллированной водой до объема 100 см³. Срок хранения в сосуде из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой - 2 месяца.

5.1.2 Раствор соляной кислоты, молярная концентрация 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 8,3 см³ соляной кислоты, а затем разбавляют дистиллированной водой до 100 см³ и перемешивают. Срок хранения не ограничен.

5.1.3 Приготовление растворов, входящих в состав ведущего электролита

5.1.4 Раствор едкого калия, массовой концентрацией 1%.

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,500 г едкого калия с точностью 0,001г. В стакан добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

5.1.5 Раствор сорбата калия, массовой концентрацией 0,8%.

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,400 г сорбата калия с точностью 0,001г. В стакан добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

5.1.6 Раствор ЦТАБ, массовой концентрацией 1,4 %.

В стакан вместимостью 50 см³ отбирают навеску 0,700 г ЦТАБ с точностью 0,001г. В стакан добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

5.2 Приготовление рабочего раствора электролита для определения углеводов

Раствор едкого калия по 5.1.4, раствор сорбата калия по 5.1.5, раствор ЦТАБ по 5.1.6 смешивают в объемном соотношении 0,02:1:1. Полученный рабочий электролит помещают в пробирки Эппендорфа в количестве 0,8 см³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин; не допускают хранения рабочего электролита более 2 сут с момента приготовления при нормальных условиях. Исходные растворы хранят при комнатной температуре в плотно закрытых стеклянных емкостях не более 10 сут с момента приготовления.

5.3. Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие рабочие параметры:

Отрицательное напряжение 16кВ

время анализа – 15 мин;

ввод пробы – пневматический, 30мБар в течение 5сек

температура термостата капилляра – 24°C

Длина волны детектирования – 254 нм

6 Приготовление образцов для градуировки прибора

6.1. Перед измерениями подготавливают капилляр к работе, промывая его 3,5% раствором соляной кислоты (по 5.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой – 3 мин, затем 4% раствором гидроксида натрия (по 5.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим электролитом (по 5.2) в течение 3 мин. Капилляр промывают каждый раз при включении прибора. Между анализами капилляр промывают рабочим электролитом в течение 2 мин. При загрязнении капилляра, что проявляется в сильном искажении электрофореграммы, допускается повторение начальной промывки.

6.2. Готовят раствор фруктозы, глюкозы и сахарозы концентрацией 0,5, 1, 3 г/дм³ в дистиллированной воде.

6.3. Градуировка прибора

Градуировку прибора проводят не реже одного раза в месяц, а также при замене капилляра, исходных растворов реактивов, используемых для приготовления ведущего электролита, после ремонта прибора, а также при неудовлетворительных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

Процедуры градуировки и анализа исследуемых проб должны проводиться на одной длине волны.

Первое измерение на каждой порции электролита повторяют не менее 2 раз. При значительном расхождении результатов первый отбрасывают. Содержимое одной пробирки с рабочим электролитом можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

Проводят измерение по 5.3. Градуировочную характеристику получают, обрабатывая полученные экспериментальные данные при помощи программного обеспечения. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99.

7 Порядок проведения испытаний

Перед каждым измерением капилляр промывают раствором соляной кислоты в течение 2 мин, дистиллированной водой - 2 мин, раствором гидроксида натрия – 2 мин и дистиллированной водой в течение 2 мин. После этого капилляр промывают рабочим раствором в течение 3 мин. Пробу разбавляют водой до суммарного содержания углеводов не более 10г/дм³.

В случае необходимости идентификации используют метод добавки и выполняют измерение повторно.

Дозируют в прибор анализируемую пробу не менее двух раз и регистрируют электрофореграммы для каждого ввода. Условия регистрации электрофореграмм проб должны соответствовать условиям регистрации электрофореграмм градуировочных растворов [п.5.3]. Пример электрофореграммы градуировочного раствора показан на рисунке приложения А.

8 Обработка и оформление результатов измерений

Используя электрофореграмму, зарегистрированную по 5, при помощи программного обеспечения к прибору рассчитывают массовую концентрацию компонента по установленным градуировочным характеристикам [п.6]. Массовую концентрацию компонента в исследуемой пробе (X) вычисляют по формуле:

$$X = k \cdot C, [1] \text{ г/дм}^3$$

где k – коэффициент разбавления пробы, определяемый следующим образом: $k = M/m$ (M – объем пробы, m – объем образца, взятого на испытание),

C – концентрация компонента, найденная по градуировочному графику, г/дм^3

Результат измерения представляют в виде: $X \pm \Delta \text{ г/дм}^3$,

где X – Концентрация компонента в пробе, г/дм^3 ;

Δ – граница абсолютной погрешности определения, г/дм^3 , при доверительной вероятности $P=0,95$.

Границу абсолютной погрешности Δ вычисляют по формуле

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100} \quad [2]$$

где δ – граница относительной погрешности измерения (таблица), %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Численное значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности.

9 Прецизионность метода

Таблица – Показатели прецизионности метода определения массовой концентрации углеводов

Диапазон измерений, г/дм ³	0,01-5
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	6
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_r , %	15
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %, $P=0,95$, $n=2$	10
Предел воспроизводимости, R , %, $P=0,95$, $n=2$	20
Границы относительной погрешности при вероятности, $\pm \sigma_r$, %, $P=0,95$, $n=2$	16

10 Требования безопасности работ

При выполнении измерений массовой концентрации общего азота в нитратной и аммонийной формах необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на прибор. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

11 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалиста, освоившего метод в процессе обучения и показавшего положительные результаты при контроле точности.

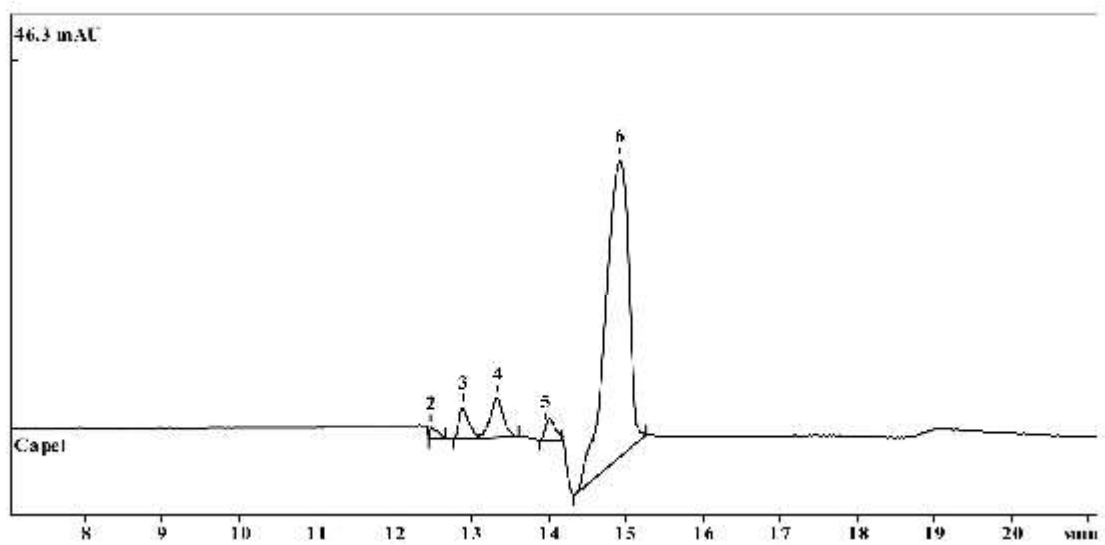


Рисунок – Электрофореграмма градуировочной смеси: 3 – фруктоза, 4 – глюкоза, 5 – сахароза, 6 – системный пик

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, углеводы, градуировка, анализ

Разработано:

ГНУ Северо-Кавказский
зональный научно-исследовательский
институт садоводства и виноградарства
Российской академии
сельскохозяйственных наук

заведующий проблемно-исследовательской лабораторией,
к. техн. н., доц.

Ю.Ф. Якуба

Мл. науч. сотр. проблемно-исследовательской лаборатории

Я.В. Ушакова

Согласовано:

Зам. директора по НИР, д-р техн. наук, профессор



И.А. Ильина

Научный сотрудник УНИР, маркетолог-патентовед
канд. с.-х. наук

И.А. Мачнева

Приложение А-6

Госстандарт РФ

ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Россельхозакадемии

Методика

оценки подлинности вина

Красные сухие вина и виноматериалы

РД 50.27.15.18/ 0001-03

Краснодар
2003

Разработано	ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
Исполнители	Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., Ажогина В.А., Якуба Ю.Ф.
Аттестовано	ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации" Госстандарта РФ
Утверждено	Директором МИП "Агро-инновация" Панкиным М.И.
Зарегистрировано	В Краевом реестре аттестованных МВИ Краснодарского края. Регистрационный код МВИ по Краевому реестру КР. 1.31.2003.00001

Срок первой проверки настоящего РД – 2008г

Периодичность проверки – один раз в 5 лет

Предисловие

1.РАЗРАБОТАН государственным научным учреждением Россельхозакадемии Северо-Кавказским зональным научно-исследовательским институтом садоводства и виноградарства (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии) г. Краснодар

ВНЕСЕН Органом по аккредитации аналитических лабораторий (центров) ФГУ «Краснодарский ЦСМ»

2.ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ

Приказом генерального директора ФГУ «Краснодарский ЦСМ» от 20 марта 2003г № 46-Д

3.Руководящий документ соответствует требованиям ГОСТ Р 8.563-96 «ГСИ. Методики выполнения измерений»

4.ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1. Введение.....	5
2. Наименование.....	6
3. Область применения.....	7
4. Нормативные ссылки.....	8
5. Определения, обозначения и сокращения.....	9
6. Средства контроля и вспомогательное оборудование.....	10
7. Порядок подготовки к проведению контроля.....	10
8. Порядок проведения контроля.....	11
9. Правила обработки результатов контроля.....	12
10. Правила оформления результатов контроля.....	12
11. Допустимая погрешность контроля.....	13
12. Техника безопасности работ.....	14
13. Библиографические данные.....	15
Приложение А. Типовые электрофореграммы №1-2.....	16
Приложение Б. Типовые электрофореграммы №3-5.....	18
Приложение В. (рекомендуемое) Проверка правильности определения.....	21

1. Введение

Показатели, контролируемые действующими стандартными методиками, направлены на контроль заведомо качественного вина и практически совершенно не приспособлены для оценки подлинности вина (в частности, на предмет его виноградного происхождения). В связи с этим появилась необходимость разработки метода, на основании которого можно получить более глубокую информацию о составе виноградного вина, подобрать такие критерии, которые трудно или практически невозможно фальсифицировать. Методика с использованием капиллярного электрофореза, регистрирующая соединения с неопредельными связями, в первую очередь фенольные соединения вина, позволяет получить такой результат.

В условиях конкретного выполнения данной методики фальсификацией считают виноматериал или вино из водно-спиртовой смеси (с использованием спирта-ректификата, спирта-сырца, эфира-альдегидных и прочих побочных продуктов спиртового производства), с добавками лимонной, винной, яблочной, янтарной кислот и инвертного сахара, колера, либо индивидуальных моносахаров – глюкозы и фруктозы.

2. Наименование

Государственная система обеспечения единства измерений.

Методика оценки подлинности вина.

Красные сухие вина и виноматериалы.

3. Область применения

Настоящая методика распространяется на красные сухие виноградные вина и виноматериалы и устанавливает метод оценки подлинности вина посредством капиллярного электрофореза.

Метод основан на получении электрофоретического профиля ненасыщенных, электропроводящих компонентов вина и виноматериалов и сравнении его с типовыми профилями красного сухого вина в данных условиях анализа на приборе капиллярного электрофореза.

Примечание: перед проведением оценки идентичности вина методом капиллярного электрофореза необходимо выполнить определение объемной доли этилового спирта, массовой концентрации сахара, титруемых и летучих кислот, сернистого ангидрида, предусмотренные действующими стандартными методиками.

4. Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры. Мензурки, колбы, пробирки. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Меры массы общего назначения и образцовые. Технические условия.

ГОСТ 20292-74 Приборы мерные лабораторные стеклянные. Бюретки, пипетки. Технические условия.

ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия.

ГОСТ Р 51144-98 Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб.

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Гидроксид натрия. Технические условия.

ГОСТ 9656-75 Борная кислота. Технические условия

ТУ 4215-023-20506233-98 Система капиллярного электрофореза «Капель-103Р» с положительной полярностью высокого напряжения.

5. Определения, обозначения и сокращения.

В настоящей методике применяют следующие термины с соответствующими определениями:

буферный раствор - водный раствор слабой кислоты и соли сильного основания;

капиллярный электрофорез - это универсальный метод количественного анализа ионов и нейтральных молекул; основан на их разделении в кварцевом капилляре диаметром менее 0,001 м, длиной 0,4-0,8 м при наложении электрического поля до 30 киловольт;

электрофореграмма - сигнал на регистрирующем устройстве, полученный в результате работы прибора капиллярного электрофореза, представляющий собой набор пиков различной интенсивности;

типовая электрофореграмма - характерная электрофореграмма для типа вина;

мкА - микроампер, единица измерения силы тока;

мВ - милливольт, единица измерения напряжения;

кВ - киловольт, единица измерения напряжения;

мкВсек - микровольт секунда, единица измерения площади интегрирующего устройства;

мм - миллимоль, единица измерения количества вещества;

мг - миллиграмм, единица массы.

6. Средства контроля и вспомогательные устройства

Прибор капиллярного электрофореза «Капель-103Р», оборудованный ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм и следующими характеристиками:

кварцевый капилляр, длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м;

в случае использования в приборе более длинного капилляра следует провести тестовое исследование на его унифицирование с выше указанными параметрами капилляра;

регулируемый источник высокого напряжения 3-25 кВ;

пневматический и электрокинетический ввод пробы;

принудительное воздушное охлаждение капилляра;

вывод и обработка информации на компьютере;

типовая электрофореграмма красного сухого вина № 1;

типовая электрофореграмма красного сухого вина № 2;

пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ по ГОСТ 20292-74;

колбы мерные на 25 см³ по ГОСТ 1770-74;

боратный буферный раствор, № 020.30.08.001.

Примечание - допускается использовать аппаратуру и мерные средства измерения с такими же или лучшими метрологическими характеристиками.

7. Порядок подготовки к проведению контроля

7.1 Отбор проб - по ГОСТ Р 51144-98.

7.2 Приготовление буферного раствора для анализа сухих красных вин и виноматериалов.

Буферный раствор следует приготовить следующим образом: 75 мг борной кислоты взвесить в мерной колбе на 25 см³, добавить 20 см³ дистиллированной воды (хранившейся не более 4 суток), растворить на водяной бане при 70°C, охладить и добавить 1 см³ 1Н гидроксида натрия (срок хранения не более 3 месяцев в пластиковой посуде), перемешать, довести дистиллированной водой до метки 25 см³. Срок хранения буферного раствора не более 3-х суток. Поместить буферный раствор в пробирки по 0,8 см³ и центрифугировать 4 минуты при 6000 об⁻¹. Установить следующий режим анализа на приборе: напряжение - 10 кВ, при этом ток должен составить $43 \pm 1,5$ мкА, время анализа 20 минут. На одной порции буферного раствора

можно выполнить 4 анализа, затем ввиду истощения заменить новой порцией.

7.3. Подготовка прибора «Капель-103Р» для проведения анализа.

Перед измерением модифицировать капилляр, промывая его 0,1N соляной кислотой в течение 3 минут, затем дистиллированной водой 3 минуты, затем 0,1 N гидроокисью натрия, также в течение 3 минут. После этого снова дистиллированной водой в течение 3 минут. Модифицирование выполняется 1 раз в начале рабочего дня перед началом выполнения измерений. Затем в капилляр подают буферный раствор в течение 3 минут и записывают не менее 2 образцов для стабилизации работы капилляра, результаты анализов отбрасывают. После ввода испытуемого образца входной капилляр несколько раз опустить в пробирку с промывочным буферным раствором для удаления следов пробы, чтобы не загрязнять рабочий буферный раствор. При переходе на новую порцию буферного раствора результат первого анализа отбросить. По окончании работ промыть капилляр согласно инструкции на прибор.

8. Порядок проведения контроля

8.1. Перед проведением измерения не требуется подготовки пробы для анализа.

8.2. Прибор должен быть подготовлен к работе по 7.3.

8.2.1. Образец вина или виноматериала отбирают мерной пипеткой в количестве 0,4 см³ в пробирку Эппендорфа, туда же добавляют 0,4 см³ разбавленного в 10раз дистиллированной водой рабочего буферного раствора, перемешивают и центрифугируют 4 минуты при 6000 об⁻¹. Пинцетом вынимают из центрифуги, осторожно, не допуская встряхивания, помещают пробирку в гнездо прибора. Пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 15 секунд дозируют пробу в капилляр. Затем пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 300 секунд (только для капилляров длиной 0,5м до детектора и внутренним диаметром 75×10^{-6} м) дозируют рабочий буферный раствор в капилляр. Запускают режим анализа. Вещества, содержащие неопределенные связи и обладающие электропроводимостью, регистрируются компьютером в виде характерного для данного режима анализа вина или виноматериала набором пиков различной интенсивности.

9. Правила обработки результатов контроля

Электрический сигнал прибора преобразуется регистрирующим устройством (компьютером) в набор пиков, различной интенсивности. Полученную электрофореграмму сравнивают с типовой. По наличию одного и то же набора пиков и соответствующей интенсивности делают вывод о идентичности вина.

Красные сухие вина имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пики

стартовой группы со средним временем выхода 4,90мин (относительное время выхода 1,00); 6,24 мин – 6,81мин (относительное время выхода от 1,26 до 1,40). Пики этой группы имеют высоту 0,5-2,0 мВ, ширину 0,2-0,4 минуты; площадь изменяется в пределах 10,0-40,0 мВсек. Основные пики средней группы имеют среднее время выхода 8,00-9,00 (относительное время 1,63-1,83); высоту 2,0-5,0 мВ, ширину 0,2-0,4 минуты; площадь изменяется в пределах 20,0-90,0 мВсек. Основные пики средней группы имеют среднее время выхода 9,10-10,0 (относительное время 1,85-2,04); высоту 6,0-20,0 мВ, ширину 0,1-0,4 минуты; площадь изменяется в пределах 50,0-200,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 10,02-18,0 мин (относительное время 2,04-3,67). Пики этой группы имеют высоту 1,0-5,0 мВ, ширину 0,2-0,6 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-50,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. Данные по обработке параметров пиков приведены в таблице.

Наименование пика	Время выхода пика, минуты	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, минуты	Площадь пика, мВсек
пики стартовой группы	4,90	1,00	0,5-1,0	0,2-0,4	10,0-30,0
	6,24-6,87	1,26-1,40	0,5-2,0	0,2-0,4	10,0-40,0
основные пики средней группы	8,00-9,00	1,63-1,83	2,0-5,0	0,2-0,4	20,0-90,0
	9,10-10,00	1,85-2,04	6,0-20,0	0,1-0,4	50,0-200,0
пики заключительной группы	10,02-18,00	2,04-3,67	1,0-5,0	0,2-0,6	5,0-50,0

10. Правила оформления результатов контроля Результаты контроля оформить в журнале следующим образом:

1. Наименование образца.
 2. Дата, время исполнения анализа.
 3. Ф.И.О. оператора.
 4. Указать наименование электрофореграммы.
 5. Указать порядковый номер анализа на приборе.
 6. Указать средние значения из 2 повторных измерений образца для времени выхода пиков, ширины, высоты и площади и сравнить их с приведенными данными в таблице.
- Протоколы контроля (электрофореграммы) дополнить следующей таблицей:

Порядковый Номер пика	Время выхода пика, минуты	Относительн ое время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, минуты	Площадь пика, мВсек

Результаты в таблице должны быть приведены как средние из 2 измерений. После таблицы, основываясь на результатах анализа образца действующими стандартными методиками и результатах оценки подлинности вина методом капиллярного электрофореза, делают вывод о виноградном происхождении вина. При отсутствии всех пиков или одной из групп пиков виноматериал или вино признают фальсифицированным. При наличии всех групп пиков, но при площадях меньше минимально указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают имеющим натуральную основу, но разбавленным водно-спиртовой смесью. При наличии всех групп пиков при значениях площадей в пределах указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают натуральным, имеющим виноградное происхождение. Превышение максимального значения площадей для любого из группы пиков свидетельствует о его виноградном происхождении и нарушениях технологического режима.

11. Допустимая погрешность контроля

Допустимая погрешность контроля по временам выхода пиков пробы, ширины, высоты и площади не должна превышать 10 %.

12. Техника безопасности работ

Техника безопасности работ соблюдается согласно инструкциям по эксплуатации приборов.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

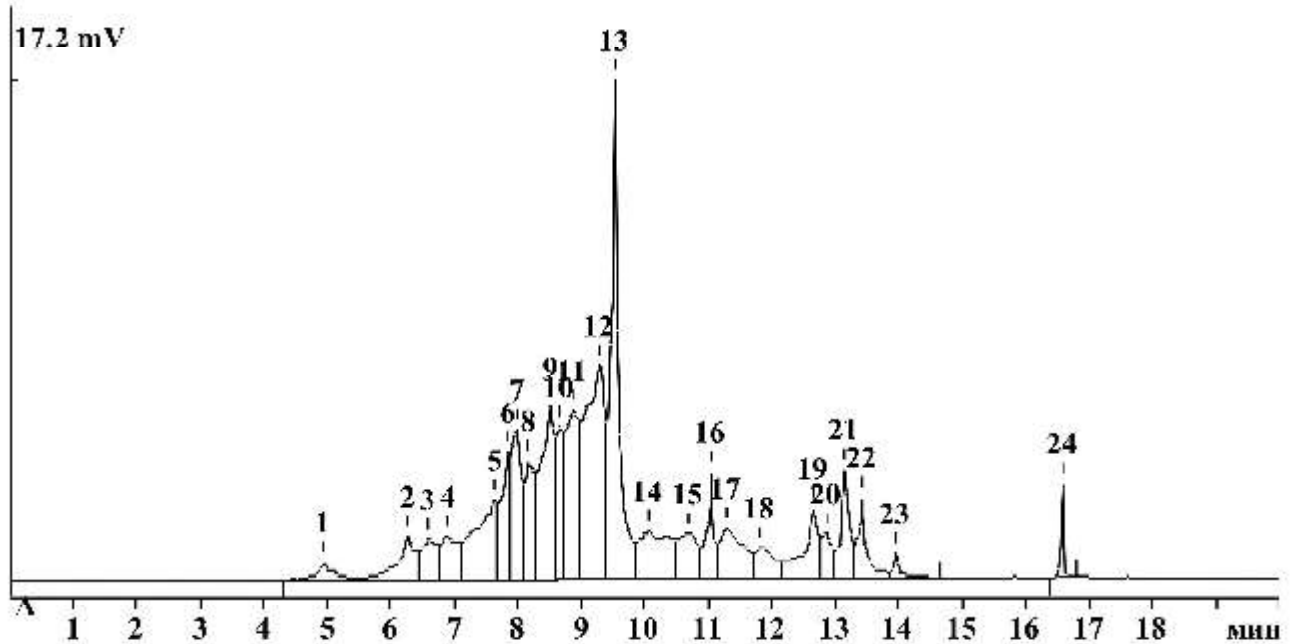
К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже техника, прошедшего соответствующий курс обучения или лица имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

13. Библиографические данные

Ключевые слова:

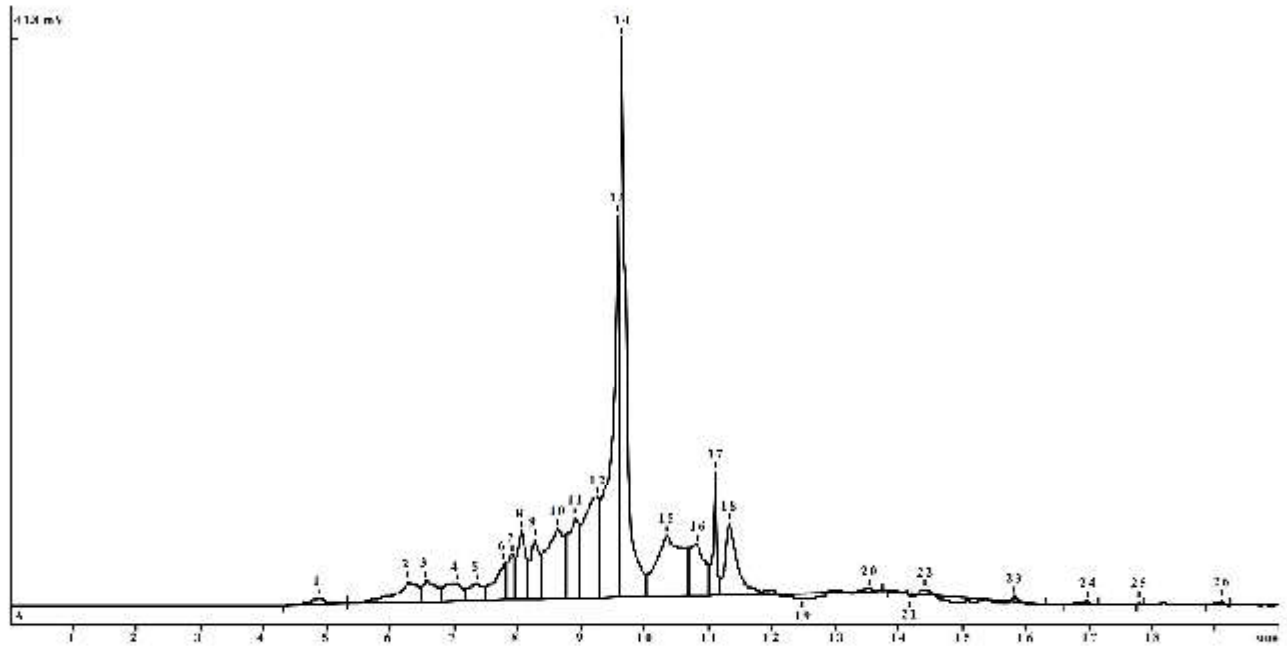
буферный раствор, вино, капиллярный электрофорез, электрофореграмма, время выхода пика, борная кислота.

Типовая электрофореграмма №1 (виноградное вино каберне)



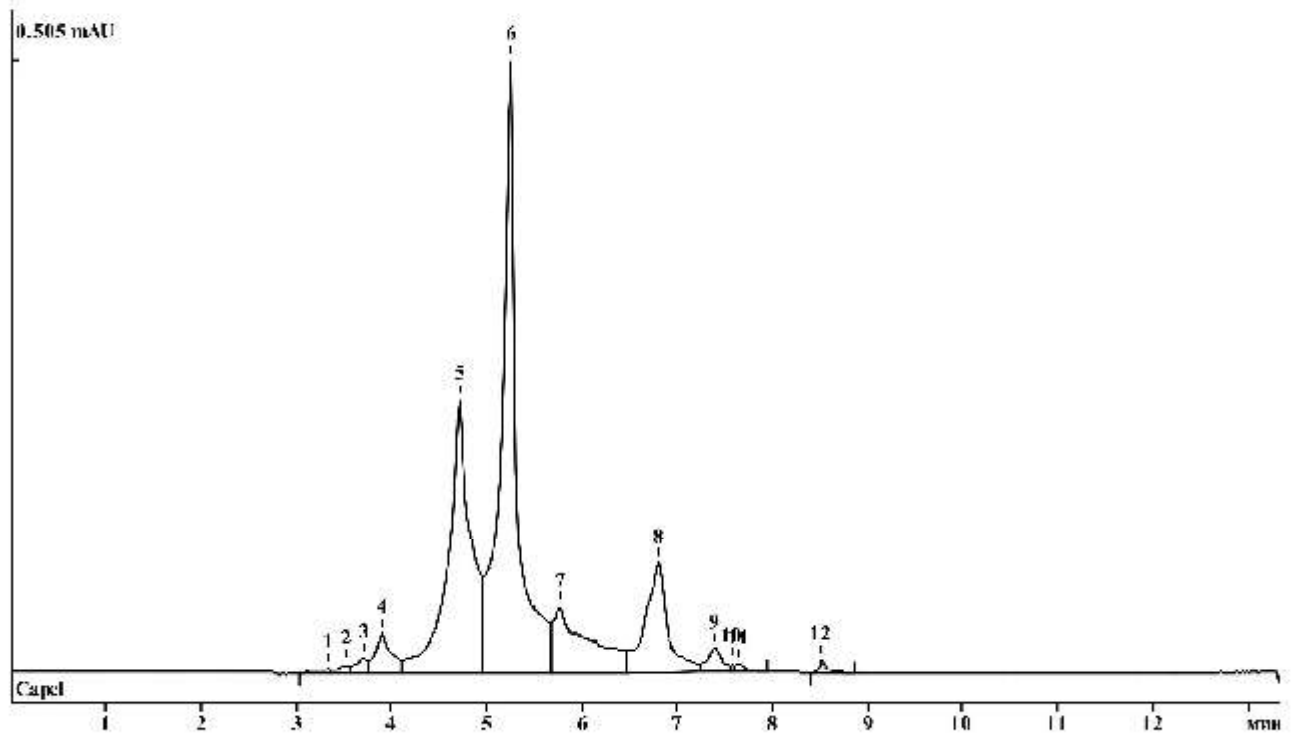
No	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	4.925	0.290	0.6141	13.3912
2	6.242	0.305	1.4402	31.1811
3	6.588	0.308	1.3599	22.1397
4	6.873	0.358	1.4663	28.2752
5	7.615	0.513	2.6350	63.1603
6	7.833	0.200	4.2346	38.4905
7	7.956	0.223	5.0119	56.0744
8	8.161	0.182	3.9433	38.6475
9	8.492	0.307	5.7290	81.8409
10	8.648	0.142	5.0926	41.2389
11	8.851	0.262	5.6234	82.2775
12	9.284	0.420	7.1251	150.3072
13	9.517	0.106	16.2323	133.6446
14	10.027	0.628	1.5901	51.9809
15	10.669	0.413	1.5393	33.2514
16	11.012	0.051	3.4793	24.7429
17	11.272	0.524	1.6973	41.9407
18	11.816	0.427	1.0743	22.6481
19	12.631	0.203	2.2913	37.8953
20	12.838	0.213	1.4958	15.6768
21	13.125	0.129	3.6142	34.4476
22	13.400	0.062	2.6949	24.4999
23	13.940	0.073	0.7741	6.6776
24	16.572	0.043	3.0361	9.6629

Типовая электрофореграмма №2 (виноградное вино «Мерло»)



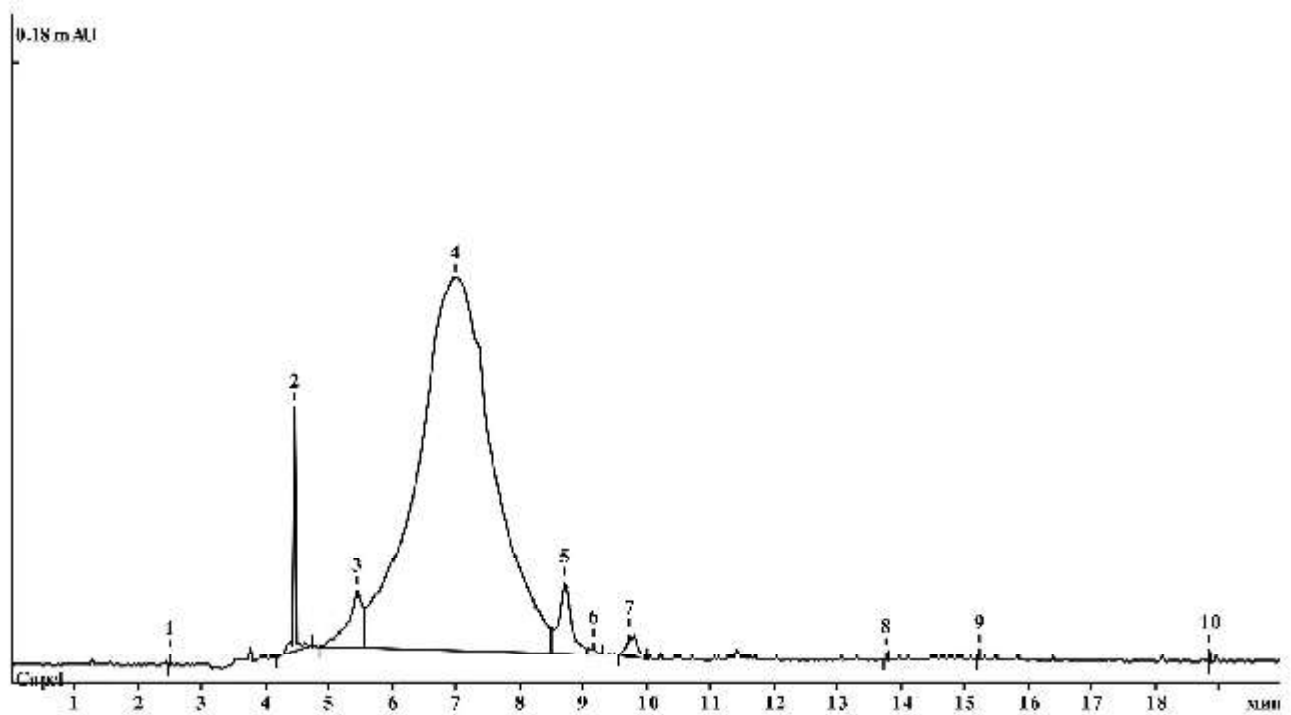
№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	4.856	0.205	0.4694	8.2453
2	6.269	0.333	1.4204	35.2943
3	6.549	0.322	1.5296	23.4349
4	7.006	0.393	1.2477	24.8869
5	7.341	0.297	1.1830	17.9992
6	7.769	0.176	2.5545	31.3593
7	7.895	0.147	3.1652	25.0026
8	8.043	0.217	4.8481	47.0692
9	8.246	0.185	4.2293	37.9001
10	8.616	0.402	5.0087	98.9532
11	8.901	0.225	5.6812	67.5632
12	9.228	0.312	7.1599	119.2388
13	9.564	0.086	26.9351	221.7706
14	9.624	0.106	39.1341	256.4417
15	10.329	0.533	4.2870	121.2426
16	10.812	0.345	3.6769	62.5532
17	11.099	0.042	8.6115	33.3262
18	11.314	0.176	5.0584	66.9641
19	12.474	0.774	-0.3558	8.9987
20	13.508	0.224	0.2100	2.2772
21	14.169	0.323	-0.2710	0.0739
22	14.404	0.167	0.3581	10.5414
23	15.815	0.089	0.3923	1.3263
24	16.962	0.064	0.2529	1.7281
25	17.757	0.010	0.1453	0.1290
26	19.081	0.042	0.3797	1.7081

Типовая электрофореграмма №3 (фальсифицированное красное сухое вино, приготовлено с помощью порошка антоциана)



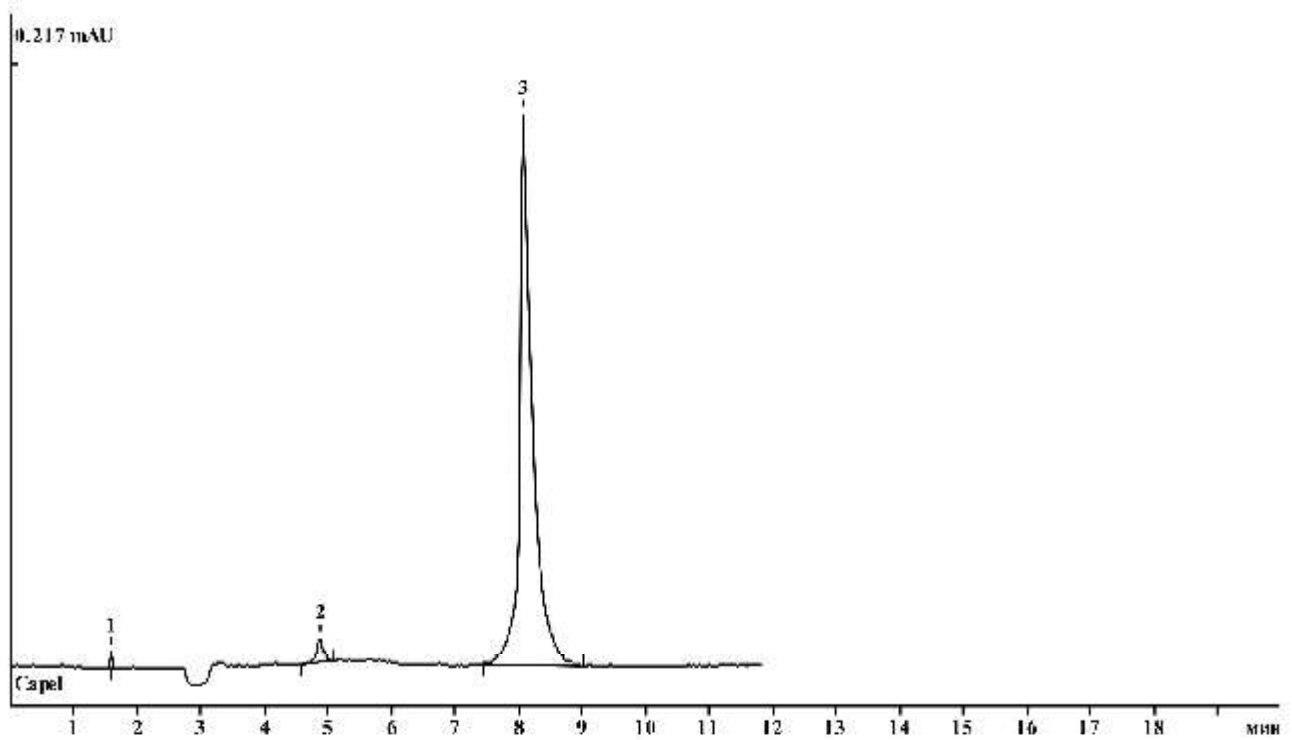
№	Время мин	Ширина мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек
1	3.324	0.236	0.0044	0.0525
2	3.516	0.172	0.0068	0.0634
3	3.698	0.178	0.0117	0.1043
4	3.885	0.183	0.0312	0.3646
5	4.703	0.205	0.2153	3.5752
6	5.240	0.109	0.4829	5.5059
7	5.752	0.408	0.0515	1.3502
8	6.795	0.221	0.0863	1.4258
9	7.383	0.159	0.0193	0.2107
10	7.562	0.038	0.0068	0.0132
11	7.632	0.137	0.0065	0.0613
12	8.506	0.057	0.0100	0.0566
12	13.351	0.175	0.9326	12.7837

Типовая электрофореграмма №4 (фальсифицированное красное сухое вино, приготовлено с помощью жидкого антоцианового красителя)



№	Время мин	Ширина мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек
1	2.477	0.014	0.0037	0.0027
2	4.458	0.012	0.0474	0.0843
3	5.448	0.228	0.0163	0.2705
4	6.973	1.155	0.1083	8.9733
5	8.708	0.176	0.0207	0.2884
6	9.147	0.024	0.0029	0.0177
7	9.730	0.156	0.0059	0.0687
8	13.742	0.014	0.0024	0.0018
9	15.218	0.010	0.0033	0.0026
10	18.851	0.012	0.0041	0.0032
10	20.011	0.180	0.2149	

Типовая электрофореграмма № 5 (фальсифицированное красное сухое вино, приготовлено только на основе синтетического красителя кармуазина)



№	Время мин	Ширина мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек
1	1.576	0.010	0.0060	0.0040
2	4.862	0.099	0.0086	0.0615
3	8.058	0.174	0.1866	2.6577
3	11.8	0.094	0.2012	2.7232

Приложение В (рекомендуемое) - проверка правильности определения подлинности вина.

Проверку правильности определения проводят согласно инструкции прибора или с применением маркеров – тирозина, миндальной, сиреневой, галловой кислот.

В случае определения подлинности натуральных виноградных вин и получения в данном режиме анализа площадей пиков по всем группам, отличающихся в 2 и более раз от приведенных в таблице свидетельства аттестации, следует установить интервалы изменения площадей пиков для данного прибора.

Интервалы устанавливают путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза. Интервал площадей пиков стартовой группы устанавливают по тирозину, пиков средней группы – по сиреневой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (табл.). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном растворе спирта в воде. Срок хранения растворов в холодильнике (+4°C) не более 1 месяца.

Таблица – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь №1) и максимального (смесь №2) значения интервала изменения площадей пиков в группе

<i>а. Наименование пика</i>	Наименование вещества контрольной смеси	Смесь №1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь №2, для максимального значения, мг/дм ³
Пики стартовой группы	Тирозин	50	150
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	20	90
	Сиреневая кислота	50	200
Пики заключительной группы	Галловая кислота	10	50

Руководитель предприятия разработ-
чика и его именование



личная подпись

Руководитель подразделения – разра-
ботчика

личная подпись

Руководитель разработки, должность

личная подпись

Исполнители, должности

личная подпись

РД 50.27.15.18/ 0001-03

Директор ГНУ
СКЗНИИСиВ Рос-
сельхозакадемии,
Егоров Е.А.
расшифровка
подписи
Руководитель науч-
ного центра вино-
делия, д.с-х.н., Гу-
гучкина Т.И.
Расшифровка
подписи

Агеева Н.М., в.н.с.,
д.т.н.
Расшифровка
подписи

Ажогина В.А., с.н.с.,
к.т.н.
Якуба Ю.Ф., с. н.с.,
к.т.н.
расшифровка
подписи

Госстандарт РФ

ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Россельхозакадемии

Методика

оценки подлинности вина

Игристые и шампанские красные и белые вина

РД 50.27.15.18/ 0002-03

Краснодар
2003

Разработано	ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
Исполнители	Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., Ажогина В.А., Якуба Ю.Ф.
Аттестовано	ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации" Госстандарта РФ
Утверждено	Директором МИП "Агро-инновация" Панкиным М.И.
Зарегистрировано	В Краевом реестре аттестованных МВИ Краснодарского края. Регистрационный код МВИ по Краевому реестру КР. 1.31.2003.00002

Срок первой проверки настоящего РД – 2008г

Периодичность проверки – один раз в 5 лет

Предисловие

1.РАЗРАБОТАН государственным научным учреждением Россельхозакадемии Северо-Кавказским зональным научно-исследовательским институтом садоводства и виноградарства (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии) г. Краснодар

ВНЕСЕН Органом по аккредитации аналитических лабораторий (центров) «Краснодарский ЦСМ»

2.ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ

Приказом генерального директора ФГУ «Краснодарский ЦСМ» от 20 марта 2003г №46д

3.Руководящий документ соответствует требованиям ГОСТ Р 8.563-96 «ГСИ. Методики выполнения измерений»

4.ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1. Введение.....	5
2. Наименование.....	6
3. Область применения.....	7
4. Нормативные ссылки.....	8
5. Определения.....	9
6. Средства контроля и вспомогательное оборудование.....	10
7. Порядок подготовки к проведению контроля.....	10
8. Порядок проведения контроля.....	11
9. Правила обработки результатов контроля.....	11
10. Правила оформления результатов контроля.....	13
11. Допустимая погрешность контроля.....	13
12. Техника безопасности работ.....	14
13. Библиографические данные.....	15
Приложение А. Типовые электрофореграммы игристых белых вин №1-2	16
Приложение Б. Типовая электрофореграмма игристого красного вина №3	18
Приложение В. (рекомендуемое) Проверка правильности определения.....	19

1. Введение

Показатели, контролируемые действующими стандартными методиками, направлены на контроль заведомо качественного вина и практически совершенно не приспособлены для оценки подлинности вина (в частности, на предмет его виноградного происхождения). В связи с этим появилась необходимость разработки метода, на основании которого можно получить более глубокую информацию о составе виноградного вина, подобрать такие критерии, которые трудно или практически невозможно фальсифицировать. Методика с использованием капиллярного электрофореза, регистрирующая соединения с неопредельными связями, в первую очередь фенольные соединения вина, позволяет получить такой результат.

В условиях конкретного выполнения данной методики фальсификацией считают виноматериал или вино из водно-спиртовой смеси (с использованием спирта-ректификата, спирта-сырца, эфирно-альдегидных и прочих побочных продуктов спиртового производства), с добавками лимонной, винной, яблочной, янтарной кислот и инвертного сахара, колера, либо индивидуальных моносахаров – глюкозы и фруктозы.

2. Наименование

Государственная система обеспечения единства измерений.

Методика оценки подлинности вина.

Игристые и шампанские красные и белые вина.

3. Область применения

Настоящая методика распространяется на игристые и шампанские красные и белые виноградные вина и устанавливает метод оценки подлинности вина посредством капиллярного электрофореза.

Метод основан на получении электрофоретического профиля ненасыщенных, электропроводящих компонентов вина и виноматериалов и сравнении его с типовыми профилями виноградных игристых и шампанских красных (белых) вин в данных условиях анализа на приборе капиллярного электрофореза.

Примечание: перед проведением оценки идентичности вина методом капиллярного электрофореза необходимо выполнить определение объемной доли этилового спирта, массовой концентрации сахара, титруемых и летучих кислот, сернистого ангидрида, предусмотренные действующими стандартными методиками.

4. Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры. Мензурки, колбы, пробирки. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Меры массы общего назначения и образцовые. Технические условия.

ГОСТ 20292-74 Приборы мерные лабораторные стеклянные. Бюретки, пипетки. Технические условия.

ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия.

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Гидроксид натрия. Технические условия.

ГОСТ 9656-75 Борная кислота. Технические условия

5. Определения, обозначения и сокращения.

В настоящей методике применяют следующие термины с соответствующими определениями:

буферный раствор - водный раствор слабой кислоты и соли сильного основания;

капиллярный электрофорез - это универсальный метод количественного анализа ионов и нейтральных молекул; основан на их разделении в кварцевом капилляре диаметром менее 0,001 м, длиной 0,4-0,8 м при наложении электрического поля до 30 киловольт;

электрофореграмма - сигнал на регистрирующем устройстве, полученный в результате работы прибора капиллярного электрофореза, представляющий собой набор пиков различной интенсивности;

типовая электрофореграмма - характерная электрофореграмма для типа вина;

мкА - микроампер, единица измерения силы тока;

мВ - милливольт, единица измерения напряжения;

кВ - киловольт, единица измерения напряжения;

мкВсек - микровольт секунда, единица измерения площади интегрирующего устройства;

мм - миллимоль, единица измерения количества вещества;

мг - миллиграмм, единица массы.

6. Средства контроля и вспомогательные устройства

Прибор капиллярного электрофореза «Капель-103Р», оборудованный ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм и следующими характеристиками:

кварцевый капилляр, длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м;

регулируемый источник высокого напряжения 3-25 кВ;

гидростатический и электрокинетический ввод пробы ;

принудительное воздушное охлаждение капилляра ;

вывод и обработка информации на компьютере;

типовая электрофореграмма игристого белого вина № 1-2;

типовая электрофореграмма игристого красного вина № 3;

пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ по ГОСТ 20292-74;

колбы мерные на 25 см³ по ГОСТ 1770-74;

боратный буферный раствор, № 020.30.08.002.

Примечание - допускается использовать аппаратуру и мерные средства измерения с такими же или лучшими метрологическими характеристиками.

7. Порядок подготовки к проведению контроля

7.1 Отбор проб - по ГОСТ Р 51144-98.

7.2 Приготовление буферного раствора для анализа игристых и шампанских белых и красных вин.

Боратный буфер следует приготовить следующим образом: 75 мг борной кислоты взвесить в мерной колбе на 25 см³, добавить 20 см³ дистиллированной воды (хранившейся не более 4 суток), растворить на водяной бане при 70°C, охладить и добавить 0,5 см³ 1Н гидроокиси натрия (хранить 3 месяца в пластиковой посуде), перемешать, довести дистиллированной водой до метки 25 см³. Поместить по 0,7 см³ буферного раствора в пробирки и центрифугировать 4 минуты при 6000 об⁻¹. Установить следующий режим анализа на приборе: напряжение -16 кВ, при этом ток должен составить 34 ± 2 мкА, время анализа 10 минут. На одной порции буферного раствора можно выполнить 5 анализов, затем ввиду истощения заменить новой порцией.

7.3. Подготовка прибора «Капель-103Р» для проведения анализа.

Перед измерением модифицировать капилляр, промывая его 0,1Н соляной кислотой в течение 3 минут, затем дистиллированной водой 3 минуты, затем 0,1 Н гидроокисью натрия, также в течение 3 минут. После этого снова дистиллированной

водой в течение 3 минут. Модифицирование выполняется 1 раз в начале рабочего дня перед началом выполнения измерений. Затем в капилляр подают буферный раствор в течение 3 минут и записывают не менее 2 образцов для стабилизации работы капилляра, результаты анализов отбрасывают. После ввода испытуемого образца входной капилляр несколько раз опустить в пробирку с промывочным буферным раствором для удаления следов пробы, чтобы не загрязнять рабочий буферный раствор. При переходе на новую порцию буферного раствора результат первого анализа отбросить. По окончании работ промыть капилляр согласно инструкции на прибор.

8. Порядок проведения контроля

8.1. Перед проведением измерения не требуется подготовки пробы для анализа.

8.2. Прибор должен быть подготовлен к работе по 7.3.

8.2.1. Образец вина или виноматериала отбирают мерной пипеткой в количестве 0,4 см³ в пробирку Эппендорфа, туда же добавляют 0,4 см³ разбавленного в 10 раз дистиллированной водой рабочего буферного раствора, перемешивают и центрифугируют 4 минуты при 6000 об⁻¹. Пинцетом вынимают из центрифуги, осторожно, не допуская встряхивания, помещают пробирку в гнездо прибора. Пневматическим методом под давлением 30 мбар в течение 15 секунд дозируют пробу в капилляр. Затем пневматическим методом под давлением 30 мбар в течение 300 секунд (только для капилляров длиной 0,5 м до детектора и внутренним диаметром 75×10^{-6} м) дозируют рабочий буферный раствор в капилляр. Запускают режим анализа. Вещества, содержащие неопределенные связи и обладающие электропроводимостью, регистрируются компьютером в виде характерного для данного режима анализа вина набором пиков различной интенсивности.

9. Правила обработки результатов контроля

Электрический сигнал прибора преобразуется регистрирующим устройством (компьютером) в набор пиков различной интенсивности. Полученную электрофореграмму сравнивают с типовой. По наличию одного и того же набора пиков и соответствующей интенсивности делают вывод о идентичности вина.

Игристые и шампанские белые и красные вина имеют следующие основные пики на электрофореграмме. Пик стартовой группы со средним временем выхода 2,44 мин (относительное время выхода 1,00). Пик этой группы имеет высоту 0,1-0,8 мВ, ширину 0,20-0,40 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-15,0 мВсек. Пики средней группы имеют среднее время выхода от 3,34 до 4,70 минут (относительное время выхода 1,36-1,93). Пики этой группы имеют высоту 1,0-7,0 мВ; ширину 0,02-0,08

минуты; площадь изменяется в пределах 3,0-15,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода от 5,20 до 6,50 минут (относительное время выхода 2,13-2,66). Пики этой группы имеют высоту 1,0-5,0 мВ; ширину 0,02-0,08 минуты; площадь изменяется в пределах 2,0-15,0 мВсек. Для красных и розовых шипучих вин появляется группа пиков со временем выхода от 3,50 до 5,00 минут, имеющих высоту 2,0-10,0 мВ, ширину 0,10-0,40 минут и изменение площади 10,0-110 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. Данные по обработке параметров пиков приведены в таблице.

Контролируемая характеристика (наименование пика)	Время выхода пика, мин.	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, мин	Площадь пика, мВ-сек
пик стартовой группы	2,44	1,00	0,1-0,8	0,20-0,40	5,0-15,0
пики средней группы	3,34 - 4,70	1,36-1,93	1,0-7,0	0,02-0,08	3,0-15,0
группа пиков, характерных только для розовых и красных вин	3,50 - 5,00	1,43-2,05	2,0-10,0	0,10-0,40	10,0-110
пики заключительной группы	5,20 - 6,50	2,13-2,66	1,0-5,0	0,02-0,08	2,0-15,0

10. Правила оформления результатов контроля

Результаты контроля оформить в журнале следующим образом:

1. Наименование образца.
2. Дата, время исполнения анализа.
3. Ф.И.О. оператора.
4. Указать наименование электрофореграммы.
5. Указать порядковый номер анализа на приборе.
6. Указать средние значения из 2 повторных измерений образца для времени выхода

пиков, ширины, высоты и площади и сравнить их с приведенными данными в таблице.

Протоколы контроля (электрофореграммы) дополнить следующей таблицей:

Порядковый номер пика	Время выхода пика, минуты	Высота пика, мВ	Ширина пика, минуты	Площадь пика, мВсек

Результаты в таблице должны быть приведены как средние из 2 измерений. После таблицы, основываясь на результатах анализа образца действующими стандартными методиками и результатах оценки подлинности вина методом капиллярного электрофореза, делают вывод о виноградном происхождении вина. При отсутствии всех пиков или одной из групп пиков виноматериал или вино признают фальсифицированным. При наличии всех групп пиков, но при площадях меньше минимально указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают имеющим натуральную основу, но разбавленным водно-спиртовой смесью. При наличии всех групп пиков при значениях площадей в пределах указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают натуральным, имеющим виноградное происхождение. Превышение максимального значения площадей для любого из группы пиков свидетельствует о его виноградном происхождении и нарушениях технологического режима.

11. Допустимая погрешность контроля

Допустимая погрешность контроля по временам выхода пиков пробы, ширины, высоты и площади не должна превышать 10 %.

12. Техника безопасности работ

Техника безопасности работ соблюдается согласно инструкциям по эксплуатации приборов.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

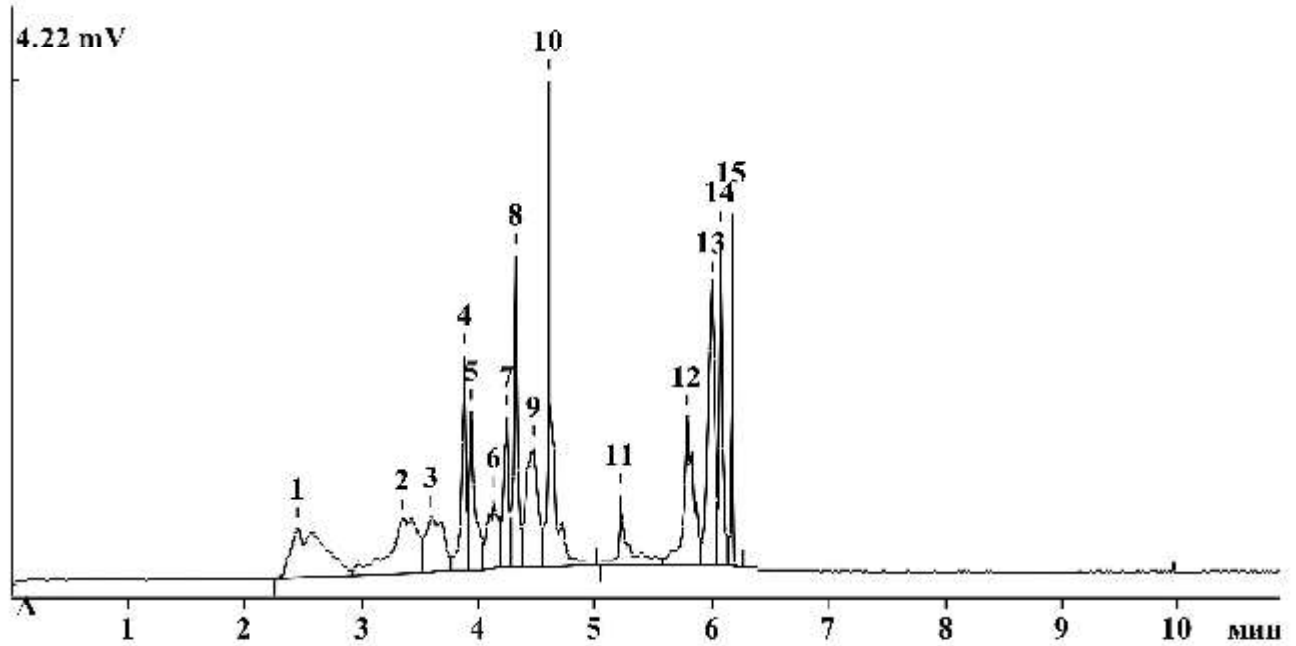
К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже техника, прошедшего соответствующий курс обучения или лица имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

13. Библиографические данные

Ключевые слова:

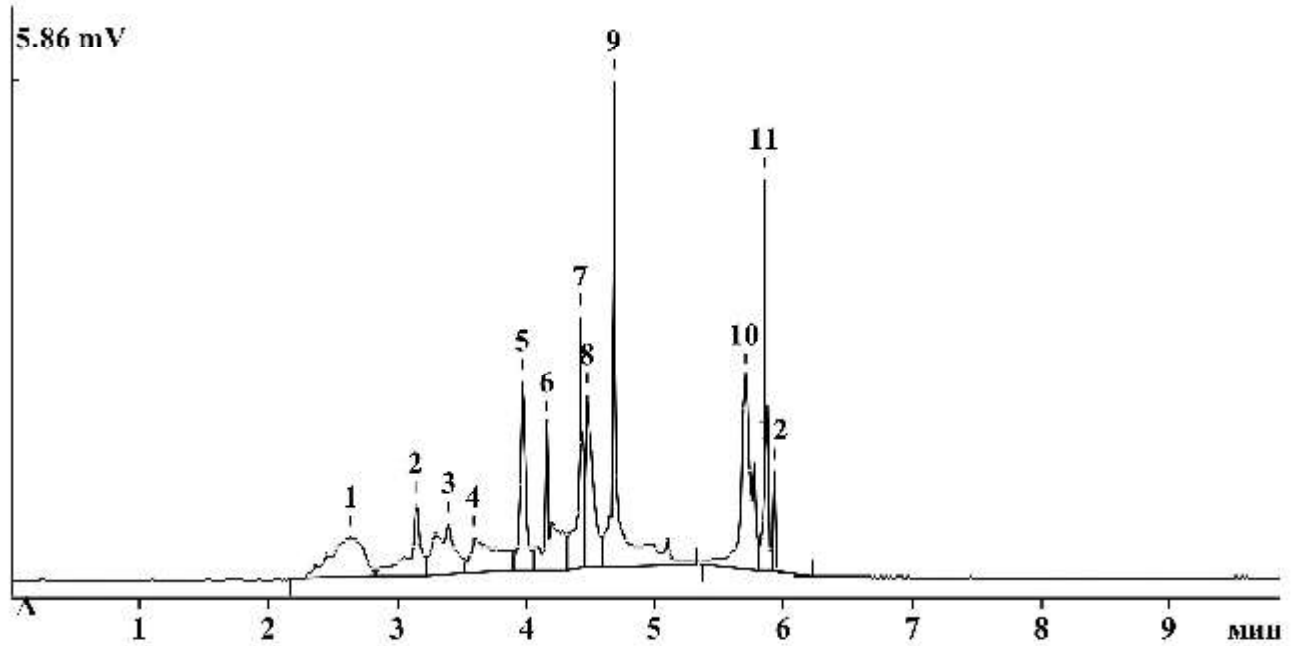
буферный раствор, вино, капиллярный электрофорез, электрофореграмма, время выхода пика, борная кислота.

Типовая электрофореграмма игристого белого вина №1
(резервуарное шампанское)



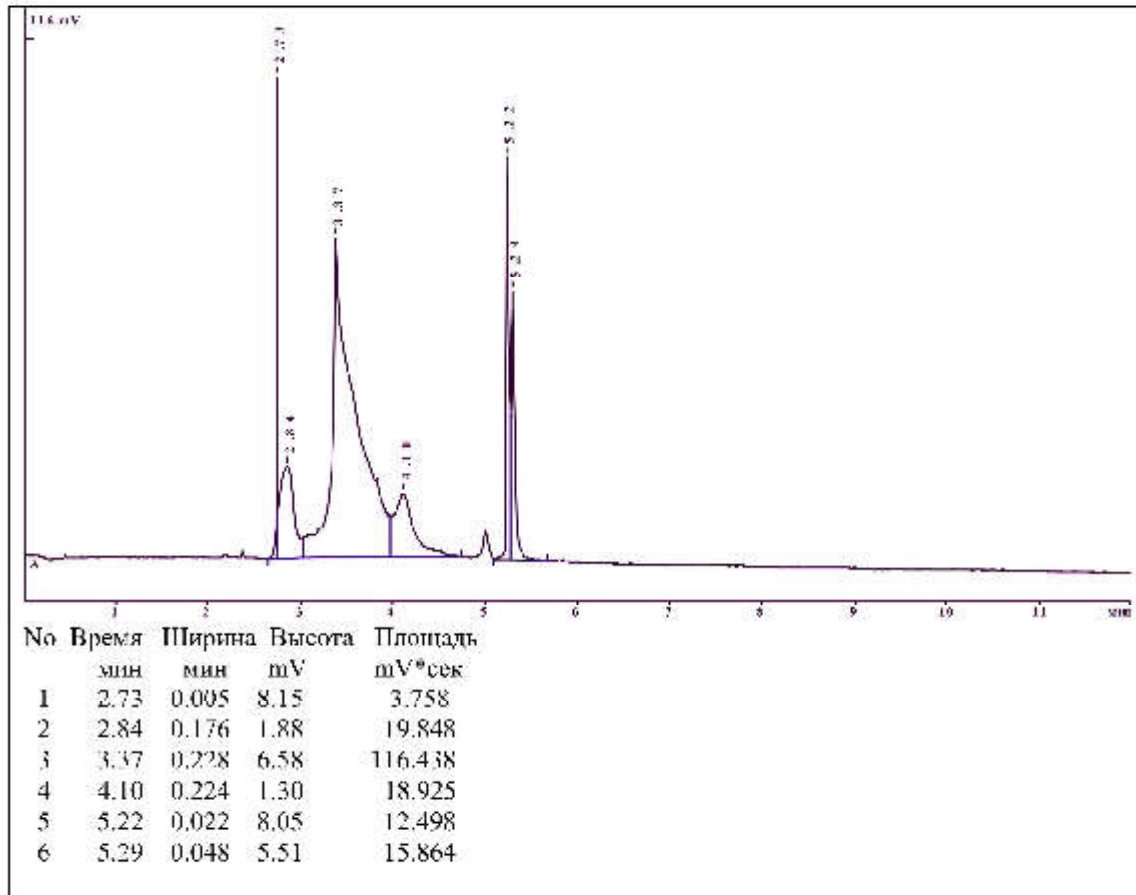
№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	2.446	0.344	0.3957	7.6633
2	3.342	0.238	0.4317	7.2068
3	3.593	0.204	0.4420	4.8088
4	3.873	0.043	1.6232	4.7085
5	3.935	0.041	1.2719	4.3073
6	4.130	0.115	0.5627	3.2624
7	4.230	0.043	1.2058	3.8368
8	4.314	0.024	2.0865	4.8458
9	4.457	0.108	0.9660	6.8215
10	4.608	0.015	2.8673	8.6634
11	5.219	0.028	0.5443	2.6787
12	5.786	0.072	1.2213	7.0885
13	5.995	0.061	2.3191	9.3095
14	6.075	0.024	2.5872	4.7788
15	6.160	0.014	2.3295	2.6497

Типовая электрофореграмма игристого белого вина №2



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	2.633	0.333	0.4498	8.4795
2	3.141	0.046	0.8086	4.9957
3	3.385	0.181	0.5587	5.8491
4	3.592	0.343	0.4044	5.8812
5	3.968	0.041	2.1335	6.5170
6	4.155	0.014	1.1573	6.3219
7	4.421	0.031	2.3297	6.9749
8	4.471	0.062	1.8821	7.3902
9	4.678	0.014	4.0967	13.2640
10	5.693	0.060	2.2105	12.4127
11	5.859	0.016	3.6843	5.7347
12	5.918	0.014	0.9255	0.8881

Типовая электрофореграмма игристого красного вина №3



Приложение В (рекомендуемое) - проверка правильности определения подлинности вина.

Проверку правильности определения проводят согласно инструкции прибора или с применением маркеров – тирозина, миндальной, сиреневой, галловой кислот.

В случае определения подлинности натуральных виноградных вин и получения в данном режиме анализа площадей пиков по всем группам, отличающихся в 2 и более раз от приведенных в таблице свидетельства аттестации, следует установить интервалы изменения площадей пиков для данного прибора.

Интервалы устанавливают путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза. Интервал площадей пиков стартовой группы устанавливают по тирозину, пиков средней группы – по сиреневой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (табл.). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном растворе спирта в воде. Срок хранения растворов в холодильнике (+4°C) не более 1 месяца.

Таблица – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь №1) и максимального (смесь №2) значения интервала изменения площадей пиков в группе

<i>b.</i> <i>наименование пика</i>	<i>Наименование</i> Наименование вещества контрольной смеси	Смесь №1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь №2, для максимального значения, мг/дм ³
Пики стартовой группы	Тирозин	25	75
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	5	20
	Сиреневая кислота		
Основные пики средней группы только для розовых вин	Миндальная кислота	10	80
	Сиреневая кислота	10	100
Пики заключительной группы	Галловая кислота	2	15

Руководитель предприятия
разработчика и его именование



личная подпись

Директор ГНУ
СКЗНИИСиВ
Россельхозакадемии,
д.э.н.
Егоров Е.А.
расшифровка
подписи
Руководитель
научного центра
виноделия, д.с-х.н.,
Гугучкина Т.И.
расшифровка
подписи

Руководитель подразделения
разработчика


личная подпись

Агеева Н.М., в.н.с.,
д.т.н.
расшифровка
подписи

Руководитель разработки, должность


личная подпись

Ажогина В.А., с.н.с.,
к.т.н.

Исполнители, должности



личная подпись

Якуба Ю.Ф., с.н.с.,
к.т.н.
расшифровка
подписи

Госстандарт РФ

ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Россельхозакадемии

Методика

оценки подлинности вина

Белые сухие вина и виноматериалы

РД 50.27.15.18/ 0003-03

Краснодар
2003

Разработано	ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
Исполнители	Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., Ажогина В.А., Якуба Ю.Ф.
Аттестовано	ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации" Госстандарта РФ
Утверждено	Директором МИП "Агро-инновация" Панкиным М.И.
Зарегистрировано	В Краевом реестре аттестованных МВИ Краснодарского края. Регистрационный код МВИ по Краевому реестру КР. 1.31.2003.00003

Срок первой проверки настоящего РД – 2008г

Периодичность проверки – один раз в 5 лет

Предисловие

1.РАЗРАБОТАН государственным научным учреждением Россельхозакадемии Северо-Кавказским зональным научно-исследовательским институтом Садоводства и Виноградарства (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии) г. Краснодар

ВНЕСЕН Органом по аккредитации аналитических лабораторий (центров) «Краснодарского ЦСМ»

2.ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ

Приказом генерального директора ФГУ «Краснодарский ЦСМ» от 20 марта 2003г №46д

3.Руководящий документ соответствует требованиям ГОСТ Р 8.563-96 «ГСИ. Методики выполнения измерений»

4.ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1. Введение.....	5
2. Наименование.....	6
3. Область применения.....	7
4. Нормативные ссылки.....	8
5. Определения.....	9
6. Средства контроля и вспомогательное оборудование.....	10
7. Порядок подготовки к проведению контроля.....	10
8. Порядок проведения контроля.....	11
9. Правила обработки результатов контроля.....	11
10. Правила оформления результатов контроля.....	12
11. Допустимая погрешность контроля.....	13
12. Техника безопасности работ.....	14
13. Библиографические данные.....	15
Приложение А. Типовая электрофореграмма белого сухого вина №1	16
Приложение Б. Типовая электрофореграмма белого сухого вина №2.....	17
Приложение В. (рекомендуемое) Проверка правильности определения.....	18

1. Введение

Показатели, контролируемые действующими стандартными методиками, направлены на контроль заведомо качественного вина и практически совершенно не приспособлены для оценки подлинности вина (в частности, на предмет его виноградного происхождения). В связи с этим появилась необходимость разработки метода, на основании которого можно получить более глубокую информацию о составе виноградного вина, подобрать такие критерии, которые трудно или практически невозможно фальсифицировать. Методика с использованием капиллярного электрофореза, регистрирующая соединения с неопредельными связями, в первую очередь фенольные соединения вина, позволяет получить такой результат.

В условиях конкретного выполнения данной методики фальсификацией считают виноматериал или вино из водно-спиртовой смеси (с использованием спирта-ректификата, спирта-сырца, эфирно-альдегидных и прочих побочных продуктов спиртового производства), с добавками лимонной, винной, яблочной, янтарной кислот и инвертного сахара, колера, либо индивидуальных моносахаров – глюкозы и фруктозы.

2. Наименование

Государственная система обеспечения единства измерений.

Методика оценки подлинности вина.

Белые сухие вина и виноматериалы.

3. Область применения

Настоящая методика распространяется на белые сухие виноградные вина и виноматериалы и устанавливает метод оценки подлинности вина посредством капиллярного электрофореза.

Метод основан на получении электрофоретического профиля ненасыщенных, электропроводящих компонентов вина и виноматериалов и сравнении его с типовыми профилями виноградного белого сухого вина в данных условиях анализа на приборе капиллярного электрофореза.

Примечание: перед проведением оценки идентичности вина методом капиллярного электрофореза необходимо выполнить определение объемной доли этилового спирта, массовой концентрации сахара, титруемых и летучих кислот, сернистого ангидрида, предусмотренные действующими стандартными методиками.

4. Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры. Мензурки, колбы, пробирки. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Меры массы общего назначения и образцовые. Технические условия.

ГОСТ 20292-74 Приборы мерные лабораторные стеклянные. Бюретки, пипетки. Технические условия.

ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия.

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Гидроксид натрия. Технические условия.

ГОСТ 9656-75 Борная кислота. Технические условия.

5. Определения, обозначения и сокращения.

В настоящей методике применяют следующие термины с соответствующими определениями:

буферный раствор - водный раствор слабой кислоты и соли сильного основания;

капиллярный электрофорез - это универсальный метод количественного анализа ионов и нейтральных молекул; основан на их разделении в кварцевом капилляре диаметром менее 0,001 м, длиной 0,4-0,8 м при наложении электрического поля до 30 киловольт;

электрофореграмма - сигнал на регистрирующем устройстве, полученный в результате работы прибора капиллярного электрофореза, представляющий собой набор пиков различной интенсивности;

типовая электрофореграмма - характерная электрофореграмма для типа вина;

мкА - микроампер, единица измерения силы тока;

мВ - милливольт, единица измерения напряжения;

кВ - киловольт, единица измерения напряжения;

мкВсек - микровольт секунда, единица измерения площади интегрирующего устройства;

мм - миллимоль, единица измерения количества вещества;

мг - миллиграмм, единица массы.

6. Средства контроля и вспомогательные устройства

Прибор капиллярного электрофореза «Капель-103Р», оборудованный ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм и следующими характеристиками:

кварцевый капилляр, длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м ;

регулируемый источник высокого напряжения 3-25 кВ ;

гидростатический и электрокинетический ввод пробы ;

принудительное воздушное охлаждение капилляра ;

вывод и обработка информации на компьютере;

типовая электрофореграмма белого сухого вина № 1;

типовая электрофореграмма белого сухого вина № 2;

пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ по ГОСТ 20292-74;

колбы мерные на 25 см³ по ГОСТ 1770-74;

боратный буферный раствор , № 020.30.08.003.

Примечание - допускается использовать аппаратуру и мерные средства измерения с такими же или лучшими метрологическими характеристиками.

7. Порядок подготовки к проведению контроля

7.1 Отбор проб - по ГОСТ Р 51144-98.

7.2 Приготовление буферного раствора для анализа сухих белых вин и виноматериалов.

Буферный раствор следует приготовить следующим образом: 75 мг борной кислоты взвесить в мерной колбе на 25 см³, добавить 20 см³ дистиллированной воды (хранившейся не более 4 суток), растворить на водяной бане при 70°C, охладить и добавить 0,3 см³ 1Н гидроокиси натрия (хранить 3 месяца в пластиковой посуде), довести дистиллированной водой до метки 25 см³. Поместить 0,7 см³ буферного раствора в пробирки и центрифугировать 4 минуты при 6000 об⁻¹. Установить следующий режим анализа на приборе: напряжение - 16 кВ, при этом ток должен составить 23 ± 1 мкА, время анализа 10 минут. На одной порции буферного раствора можно выполнить 5 анализов, затем ввиду истощения заменить новой порцией.

7.3. Подготовка прибора «Капель-103Р» для проведения анализа.

Перед измерением модифицировать капилляр, промывая его 0,1Н соляной кислотой в течение 3 минут, затем дистиллированной водой 3 минуты, затем 0,1 Н гидроокисью натрия, также в течение 3 минут. После этого снова дистиллированной водой в течение 3 минут. Модифицирование выполняется 1 раз в начале рабочего дня

перед началом выполнения измерений. Затем в капилляр подают буферный раствор в течение 3 минут и записывают не менее 2 образцов для стабилизации работы капилляра, результаты анализов отбрасывают. После ввода испытуемого образца входной капилляр несколько раз опустить в пробирку с промывочным буферным раствором для удаления следов пробы, чтобы не загрязнять рабочий буферный раствор. При переходе на новую порцию буферного раствора результат первого анализа отбросить. По окончании работ промыть капилляр согласно инструкции на прибор.

8. Порядок проведения контроля

8.1. Перед проведением измерения не требуется подготовки пробы для анализа.

8.2. Прибор должен быть подготовлен к работе по 7.3.

8.2.1. Образец вина или виноматериала отбирают мерной пипеткой в количестве 0,4 см³ в пробирку Эппендорфа, туда же добавляют 0,4 см³ разбавленного в 10раз дистиллированной водой рабочего буферного раствора, перемешивают и центрифугируют 4 минуты при 6000 об⁻¹. Пинцетом вынимают из центрифуги, осторожно, не допуская встряхивания, помещают пробирку в гнездо прибора. Пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 15 секунд дозируют пробу в капилляр. Затем пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 300 секунд (только для капилляров длиной 0,5м до детектора и внутренним диаметром 75 × 10⁻⁶ м) дозируют рабочий буферный раствор в капилляр. Запускают режим анализа. Вещества, содержащие неопредельные связи и обладающие электропроводимостью, регистрируются компьютером в виде характерного для данного режима анализа вина или виноматериала набором пиков различной интенсивности.

9. Правила обработки результатов контроля

Электрический сигнал прибора преобразуется регистрирующим устройством (компьютером) в набор пиков, различной интенсивности. Полученную электрофореграмму сравнивают с типовой. По наличию одного и то же набора пиков и соответствующей интенсивности делают вывод о идентичности вина.

Белые сухие вина имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пики стартовой группы имеют среднее время выхода от 3,00мин до 4,50 мин (относительное время выхода 0,53-0,80). Пики этой группы имеют высоту 0,2-3,0 мВ, ширину 0,05-0,3 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-20,0 мВсек. Основной пик средней группы принят за характеристический, имеет среднее время выхода 5,58 (относительное время 1,00). Его высота составляет 3,0-10,0 мВ (милливольт), ширина 0,02-0,05 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-30,0 мВсек. Остальные пики средней

группы имеют среднее время выхода от 5,00 до 5,30 минут (относительное время 0,89-0,95); высота составляет 0,5-3,0 мВ (милливольт), ширина 0,02-0,05 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-10,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода от 6,00 мин до 8,00 мин (относительное время 1,07 –1,43). Пики этой группы имеют высоту 5,0-25,0 мВ, ширину 0,02-0,05 минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-40,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. Данные по обработке параметров пиков приведены в таблице.

Контролируемая характеристика (наименование пика)	Время выхода пика, мин.	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, мин.	Площадь пика, мВ·сек
пики стартовой группы	3,00-4,50	0,53-0,80	0,2-3,0	0,05-0,30	5,0-20,0
пики средней группы	5,00-5,30	0,89-0,97	0,5-3,0	0,02-0,05	5,0-10,0
	5,58	1,00	3,0-10,0	0,02-0,05	5,0-30,0
пики заключительной группы	6,00-8,00	1,07-1,43	5,0-25,0	0,02-0,05	5,0-40,0

10. Правила оформления результатов контроля

Результаты контроля оформить в журнале следующим образом:

1. Наименование образца.
2. Дата, время исполнения анализа.
3. Ф.И.О. оператора.
4. Указать наименование электрофореграммы.
5. Указать порядковый номер анализа на приборе.
6. Указать средние значения из 2 повторных измерений образца для времени выхода пиков, ширины, высоты и площади и сравнить их с приведенными данными в таблице.

Протоколы контроля (электрофореграммы) дополнить следующей таблицей:

Порядковый номер пика	Время выхода пика, минуты	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, минуты	Площадь пика, мВсек

Результаты в таблице должны быть приведены как средние из 2 измерений. После таблицы, основываясь на результатах анализа образца действующими стандартными методиками и результатах оценки подлинности вина методом капиллярного электрофореза, делают вывод о виноградном происхождении вина. При отсутствии всех пиков или одной из групп пиков виноматериал или вино признают фальсифицированным. При наличии всех групп пиков, но при площадях меньше минимально указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают имеющим натуральную основу, но разбавленным водно-спиртовой смесью. При наличии всех групп пиков при значениях площадей в пределах указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают натуральным, имеющим виноградное происхождение. Превышение максимального значения площадей для любого из группы пиков свидетельствует о его виноградном происхождении и нарушениях технологического режима.

11. Допустимая погрешность контроля

Допустимая погрешность контроля по временам выхода пиков пробы, ширины, высоты и площади не должна превышать 10 %.

12. Техника безопасности работ

Техника безопасности работ соблюдается согласно инструкциям по эксплуатации приборов.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

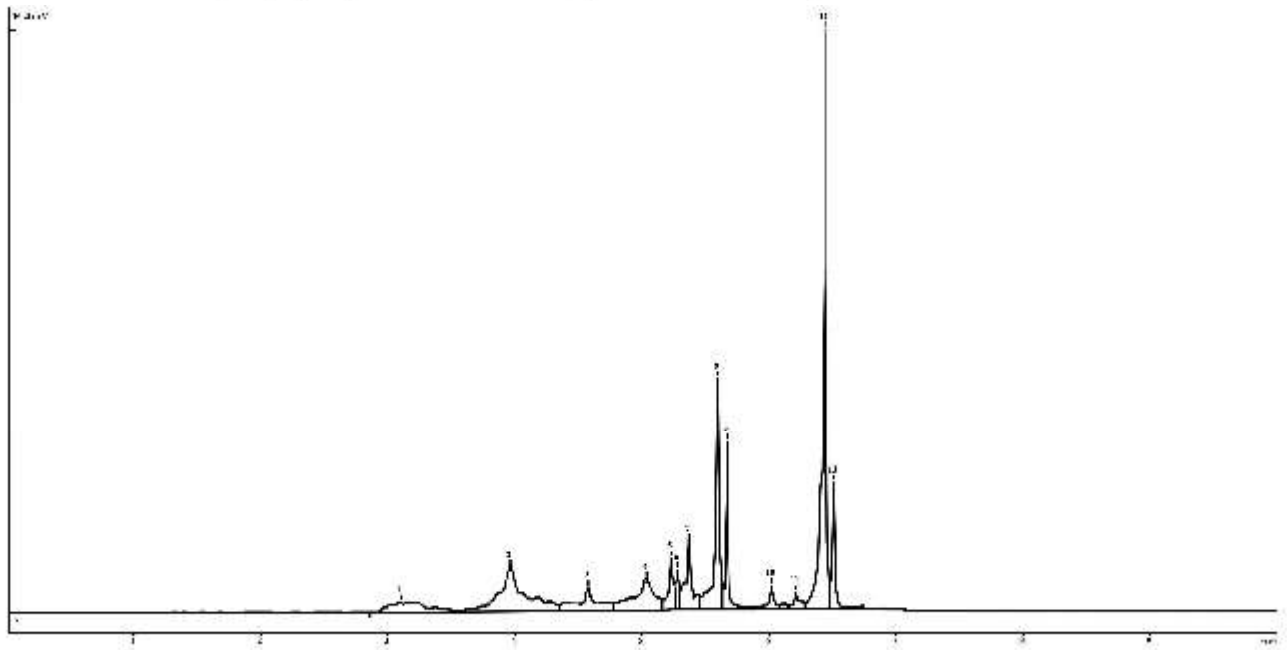
К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже техника, прошедшего соответствующий курс обучения или лица имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

13. Библиографические данные

Ключевые слова:

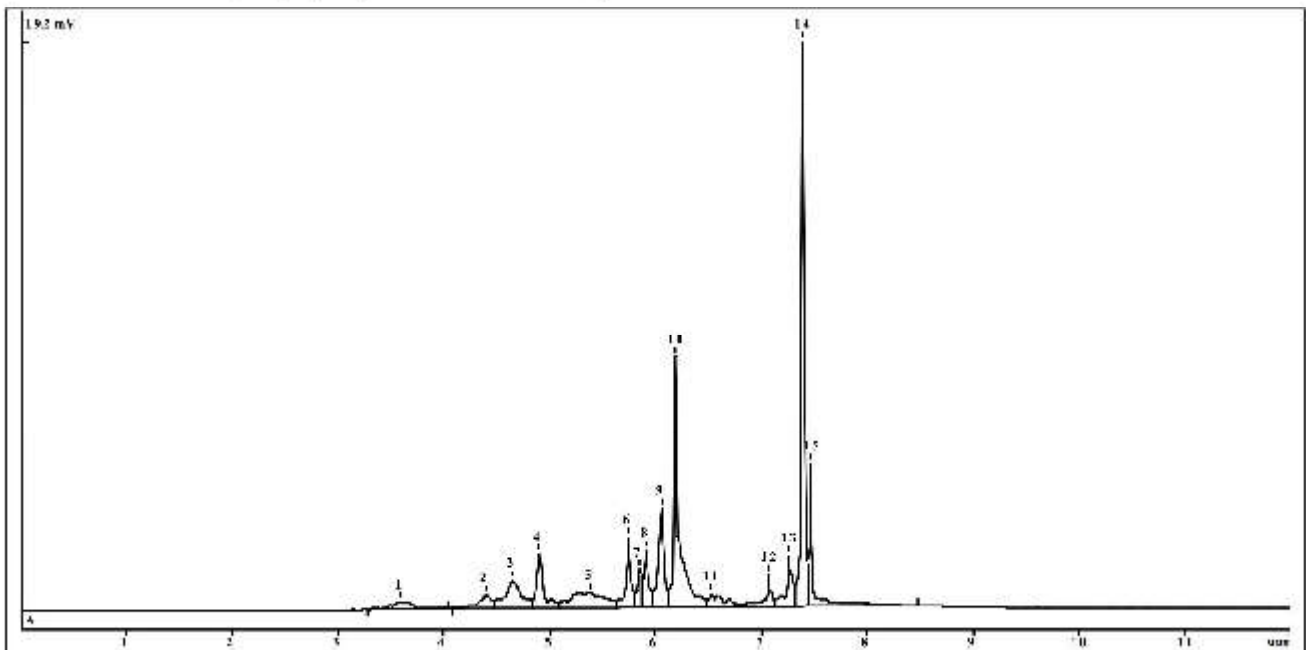
буферный раствор, вино, капиллярный электрофорез, электрофореграмма, время выхода пика, борная кислота.

Типовая электрофореграмма белого сухого вина № 1;



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.084	0.281	0.2865	5.6318
2	3.953	0.106	1.1850	16.3864
3	4.564	0.052	0.6285	6.0617
4	5.021	0.110	0.8400	9.2500
5	5.216	0.022	1.1549	3.1180
6	5.264	0.029	1.1125	1.9608
7	5.359	0.029	1.7918	6.5488
8	5.585	0.024	5.8788	13.6754
9	5.663	0.016	3.7093	5.8303
10	6.012	0.024	0.5673	1.8409
11	6.209	0.031	0.4194	2.0616
12	6.425	0.019	13.1057	27.8487
13	6.504	0.015	2.7414	4.3901

Типовая электрофореграмма белого сухого вина № 2



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.027	0.120	0.3524	2.2363
2	3.198	0.227	0.3313	4.1576
3	3.926	0.147	0.5094	4.3172
4	4.135	0.126	1.0341	8.8403
5	4.364	0.051	1.9368	8.8849
6	4.763	0.363	0.6083	11.9110
7	5.123	0.021	2.2582	6.8800
8	5.195	0.076	1.6545	8.1279
9	5.395	0.070	3.0857	12.1770
10	5.447	0.023	7.0055	23.3207
11	5.861	0.041	0.4613	1.6527
12	5.911	0.102	0.4428	2.6461
13	6.252	0.021	1.1278	4.2500
14	6.398	0.030	2.1669	6.1873
15	6.479	0.022	19.7400	32.6928
16	6.540	0.015	4.1337	15.3556

Приложение В (рекомендуемое) - проверка правильности определения подлинности вина.

Проверку правильности определения проводят согласно инструкции прибора или с применением маркеров – тирозина, миндальной, сиреневой, галловой кислот.

В случае определения подлинности натуральных виноградных вин и получения в данном режиме анализа площадей пиков по всем группам, отличающихся в 2 и более раз от приведенных в таблице свидетельства аттестации, следует установить интервалы изменения площадей пиков для данного прибора.

Интервалы устанавливают путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза. Интервал площадей пиков стартовой группы устанавливают по тирозину, пиков средней группы – по сиреневой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (табл.). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном растворе спирта в воде. Срок хранения растворов в холодильнике (+4°C) не более 1 месяца.

Таблица – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь №1) и максимального (смесь №2) значения интервала изменения площадей пиков в группе

с. <i>наименование пика</i>	Наименование вещества контрольной смеси	Смесь №1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь №2, для максимального значения, мг/дм ³
Пики стартовой группы	Тирозин	25	100
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	5	10
	Сиреневая кислота	5	30
Пики заключительной группы	Галловая кислота	5	50

Руководитель предприятия
разработчика и его именованние



личная подпись

Руководитель подразделения —
разработчика

личная подпись

Руководитель разработки,
должность

личная подпись

Исполнители, должности

личная подпись

Директор ГНУ
СКЗНИИСиВ
Россельхозакадемии,
д.э.н.

Егоров Е.А.
расшифровка
подписи
Руководитель
научного центра
виноделия, д.с-х.н.,
Гугучкина Т.И.
расшифровка
подписи

Агеева Н.М., в.н.с.,
д.т.н.
расшифровка
подписи

Ажогина В.А., с.н.с.,
к.т.н.

Якуба Ю.Ф., с.н.с.,
к.т.н.
расшифровка
подписи

Госстандарт РФ

ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Россельхозакадемии

Методика

оценки подлинности вина

Вина натуральные полусладкие и специальных технологий

РД 50.27.15.18/ 0004-03

Краснодар
2003

Разработано	ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
Исполнители	Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., Ажогина В.А., Якуба Ю.Ф.
Аттестовано	ФГУ "Краснодарский центр стандартизации, метрологии и сертификации" Госстандарта РФ
Утверждено	Директором МИП "Агро-инновация" Панкиным М.И.
Зарегистрировано	В Краевом реестре аттестованных МВИ Краснодарского края. Регистрационный код МВИ по Краевому реестру КР. 1.31.2003.00004

Срок первой проверки настоящего РД – 2008г

Периодичность проверки – один раз в 5 лет

Предисловие

1.РАЗРАБОТАН государственным научным учреждением Россельхозакадемии Северо-Кавказским зональным научно-исследовательским институтом Садоводства и Виноградарства (ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии) г. Краснодар

ВНЕСЕН Органом по аккредитации аналитических лабораторий (центров) «Краснодарского ЦСМ»

2.ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ

Приказом генерального директора ФГУ «Краснодарский ЦСМ» от 20 марта 2003г №46д

3.Руководящий документ соответствует требованиям ГОСТ Р 8.563-96 «ГСИ. Методики выполнения измерений»

4.ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1. Введение.....	5
2. Наименование.....	6
3. Область применения.....	7
4. Нормативные ссылки.....	8
5. Определения обозначения и сокращения.....	9
6. Средства контроля и вспомогательное оборудование.....	10
7. Порядок подготовки к проведению контроля.....	10
8. Порядок проведения контроля.....	11
9. Правила обработки результатов контроля.....	12
10. Правила оформления результатов контроля.....	13
11. Допустимая погрешность контроля.....	14
12. Техника безопасности работ.....	15
13. Библиографические данные.....	16
Приложение А. Типовые электрофореграммы № 1-4.....	17
Приложение Б. Типовые электрофореграммы № 5 - 8.....	21
Приложение В. (рекомендуемое) Проверка правильности определения.....	25

1. Введение

Показатели, контролируемые действующими стандартными методиками, направлены на контроль заведомо качественного вина и практически совершенно не приспособлены для оценки подлинности вина (в частности, на предмет его виноградного происхождения). В связи с этим появилась необходимость разработки метода, на основании которого можно получить более глубокую информацию о составе виноградного вина, подобрать такие критерии, которые трудно или практически невозможно фальсифицировать. Методика с использованием капиллярного электрофореза, регистрирующая соединения с неопредельными связями, в первую очередь фенольные соединения вина, позволяет получить такой результат.

В условиях конкретного выполнения данной методики фальсификацией считают виноматериал или вино из водно-спиртовой смеси (с использованием спирта-ректификата, спирта-сырца, эфирно-альдегидных и прочих побочных продуктов спиртового производства), с добавками лимонной, винной, яблочной, янтарной кислот и инвертного сахара, колера, либо индивидуальных моносахаров – глюкозы и фруктозы.

2. Наименование

Государственная система обеспечения единства измерений.

Методика оценки подлинности вина.

Вина натуральные полусладкие и специальных технологий.

3. Область применения

Настоящая методика распространяется на виноградные натуральные вина полусладкие и специальных технологий и устанавливает метод оценки подлинности вина посредством капиллярного электрофореза.

Метод основан на получении электрофоретического профиля ненасыщенных, электропроводящих компонентов вина и сравнении его с типовыми профилями виноградных вин специальных технологий в данных условиях анализа на приборе капиллярного электрофореза.

Примечание: перед проведением оценки идентичности вина методом капиллярного электрофореза необходимо выполнить определение объемной доли этилового спирта, массовой концентрации сахара, титруемых и летучих кислот, сернистого ангидрида, предусмотренные действующими стандартными методиками.

4. Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры. Мензурки, колбы, пробирки. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Меры массы общего назначения и образцовые. Технические условия.

ГОСТ 20292-74 Приборы мерные лабораторные стеклянные. Бюретки, пипетки. Технические условия.

ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия.

ГОСТ 3118-77 Соляная кислота. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Гидроксид натрия. Технические условия.

ГОСТ 9656-75 Борная кислота. Технические условия

ГОСТ 2493-75 Дигидрофосфат калия. Технические условия

5. Определения, обозначения и сокращения.

В настоящей методике применяют следующие термины с соответствующими определениями:

буферный раствор - водный раствор слабой кислоты и соли сильного основания;

капиллярный электрофорез - это универсальный метод количественного анализа ионов и нейтральных молекул; основан на их разделении в кварцевом капилляре диаметром менее 0,001 м, длиной 0,4-0,8 м при наложении электрического поля до 30 киловольт;

электрофореграмма - сигнал на регистрирующем устройстве, полученный в результате работы прибора капиллярного электрофореза, представляющий собой набор пиков различной интенсивности;

типовая электрофореграмма - характерная электрофореграмма для типа вина;

мкА - микроампер, единица измерения силы тока;

мВ - милливольт, единица измерения напряжения;

кВ - киловольт, единица измерения напряжения;

мкВсек - микровольт секунда, единица измерения площади интегрирующего устройства;

мм - миллимоль, единица измерения количества вещества;

мг - единица массы.

6. Средства контроля и вспомогательные устройства

Прибор капиллярного электрофореза «Капель-103Р», оборудованный ультрафиолетовым детектором, с длиной волны лампы 254 нм и следующими характеристиками:

кварцевый капилляр, длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75×10^{-6} м ;

регулируемый источник высокого напряжения 3-25 кВ;

гидростатический и электрокинетический ввод пробы;

принудительное воздушное охлаждение капилляра;

вывод и обработка информации на компьютере;

типовые электрофореграммы № 1 - 4;

типовые электрофореграммы № 5 - 8;

пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ по ГОСТ 20292-74;

колбы мерные на 25 см³ по ГОСТ 1770-74;

боратный буферный раствор , № 020.30.08.004.

Примечание - допускается использовать аппаратуру и мерные средства измерения с такими же или лучшими метрологическими характеристиками.

7. Порядок подготовки к проведению контроля

7.1 Отбор проб - по ГОСТ Р 51144-98.

7.2. Приготовление буферного раствора для анализа красных и белых крепленых вин и виноматериалов (вина специальных технологий).

Буферный раствор состоит из 2 объемов боратного буфера и 1 объема фосфатного. Боратный буфер следует приготовить следующим образом: 75 мг борной кислоты взвесить в мерной колбе на 25 см³, добавить 20 см³ дистиллированной воды (хранившейся не более 4 суток), растворить на водяной бане при 70°C, охладить и добавить 0,3 см³ 1Н гидроокиси натрия (срок хранения 3 месяца в пластиковой посуде), довести дистиллированной водой до метки 25см³. Затем взвесить 68 мг дигидрофосфата калия в мерной колбе на 25 см³, добавить 20 см³ дистиллированной воды, растворить на водяной бане при 70°C, охладить и довести до метки. Затем в мерный стакан на 25 см³ внести 10 см³ боратного буфера и 5 см³ фосфатного, перемешать. Поместить по 0,7 см³ смешанного буферного раствора в пробирки и центрифугировать 4 минуты при 6000 об⁻¹. Установить следующий режим анализа на приборе: напряжение - 16 кВ , при этом ток должен составить 38 ± 2 мкА, время анализа 22 минут. На одной порции буферного раствора можно выполнить 5 анализов, затем ввиду истощения заменить новой порцией.

7.3. Подготовка прибора «Капель-103Р» для проведения анализа.

Перед измерением модифицировать капилляр, промывая его 0,1N соляной кислотой в течение 3 минут, затем дистиллированной водой 3 минуты, затем 0,1 N гидроокисью натрия, также в течение 3 минут. После этого снова дистиллированной водой в течение 3 минут. Модифицирование выполняется 1 раз в начале рабочего дня перед началом выполнения измерений. Затем в капилляр подают буферный раствор в течение 3 минут и записывают не менее 2 образцов для стабилизации работы капилляра, результаты анализов отбрасывают. После ввода испытуемого образца входной капилляр несколько раз опустить в пробирку с промывочным буферным раствором для удаления следов пробы и, чтобы не загрязнять рабочий буферный раствор. При переходе на новую порцию буферного раствора результат первого анализа отбросить. По окончании работ промыть капилляр согласно инструкции на прибор.

8. Порядок проведения контроля

8.1. Перед проведением измерения не требуется подготовки пробы для анализа.

8.2. Прибор должен быть подготовлен к работе по 7.3.

8.2.1. Образец вина или виноматериала отбирают мерной пипеткой в количестве 0,4 см³ в пробирку Эппендорфа, туда же добавляют 0,4 см³ разбавленного в 10раз дистиллированной водой рабочего буферного раствора, перемешивают и центрифугируют 4 минуты при 6000 об⁻¹. Пинцетом вынимают из центрифуги, осторожно, не допуская встряхивания, помещают пробирку в гнездо прибора. Пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 15 секунд дозируют пробу в капилляр. Затем пневматическим методом под давлением 30мбар в течение 300 секунд (только для капилляров длиной 0,5м до детектора и внутренним диаметром 75×10^{-6} м) дозируют рабочий буферный раствор в капилляр. Запускают режим анализа. Вещества, содержащие неопределенные связи и обладающие электропроводимостью, регистрируются компьютером в виде характерного для данного режима анализа вина набором пиков различной интенсивности.

9. Правила обработки результатов контроля

Электрический сигнал прибора преобразуется регистрирующим устройством (компьютером) в набор пиков различной интенсивности. Полученную электрофорсграмму сравнивают с типовой. По наличию одного и того же набора пиков и соответствующей интенсивности делают вывод о идентичности вина.

9.1. Электрофореграммы вин специальных технологий разделены на две группы: красные и белые, обе группы характеризуются одним и тем же набором пиков, которые в случае красных вин имеют гораздо большую интенсивность, чем в случае белых вин.

9.2. Белые вина (натуральные полусладкие и специальные - портвейны, мадера, херес и им аналогичные) имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пик меланоидинов со средним временем выхода 3,59 мин (относительное время выхода 1,00); высота 1,0-10,0 мВ, ширину 0,20-0,40 минуты; площадь изменяется в пределах 10,0-150,0 мВсек. Пики средней группы имеют среднее время выхода от 5,25 до 10,17 мин (относительное время от 1,46 до 2,83). Пики этой группы имеют высоту 0,5-3,0 мВ, ширину 0,05-0,6 минуты; площадь изменяется в пределах 2,0- 40,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 12,32-16,90 мин (относительное время 3,43-4,70). Пики этой группы имеют высоту 1,0-5,0 мВ, ширину 0,05-0,6минуты; площадь изменяется в пределах 5,0-50,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$.

9.3. Красные вина (натуральные полусладкие и специальные - кагор, портвейны и им аналогичные) имеют следующие основные пики на электрофореграмме: пик меланоидинов со средним временем выхода 3,18 мин (относительное время выхода 1,00), его высота составляет 0,5-5,0 мВ, ширина 0,2-0,4 минуты; площадь изменяется в пределах 10,0-100,0 мВсек. Пики средней группы являются основными на электрофореграмме и имеют среднее время выхода от 4,46 до 7,70 мин (относительное время от 1,40 до 2,42). Пики этой группы имеют высоту 2,0-10,0 мВ, ширину 0,2-0,8 минуты; площадь изменяется в пределах 30,0-250,0 мВсек. Пики заключительной группы имеют среднее время выхода 9,76-12,30 мин (относительное время 3,06-3,86). Пики этой группы имеют высоту 1,0-5,0 мВ, ширину 0,2-0,5минуты; площадь изменяется в пределах 10,-60,0 мВсек. Отклонение времени выхода пиков составляет $\pm 10\%$. Параметры пиков для белых и красных вин приведены в таблице.

Контролируемая характеристика (наименование пика)	Время выхода пика, мин.	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, мин.	Площадь пика, мВ-сек
параметры пиков для белых вин (натуральных полусладких, специальных - портвейны, мадера, херес и другие)					
пик меланоидинов	3,59	1,00	1,0-10,0	0,2-0,4	10,0-150,0

пики средней группы	5,25-10,17	1,46-2,83	0,5-3,0	0,05-0,6	2,0-40,0
пики заключительной группы	12,32-16,9	3,43-4,70	1,0-5,0	0,05-0,6	5,0-50,0
параметры пиков для красных вин (натуральных полусладких, специальных - кагор, портвейны и другие)					
пик меланоидинов	3,18	1,00	0,5-5,0	0,2-0,4	10,0-100,0
пики средней группы	4,46-7,70	1,40-2,42	2,0-10,0	0,2-0,8	30,0-250,0
пики заключительной группы	9,76-12,30	3,06-3,86	1,0-5,0	0,2-0,5	10,0-60,0

10. Правила оформления результатов контроля

Результаты контроля оформить в журнале следующим образом:

1. Наименование образца.
2. Дата, время исполнения анализа.
3. Ф.И.О. оператора.
4. Указать наименование электрофореграммы.
5. Указать порядковый номер анализа на приборе.
6. Указать средние значения из 2 повторных измерений образца для времени выхода пиков, ширины, высоты и площади и сравнить их с приведенными данными в таблице.

Протоколы контроля (электрофореграммы) дополнить следующей таблицей:

Порядковый номер пика	Время выхода пика, минуты	Относительное время выхода	Высота пика, мВ	Ширина пика, минуты	Площадь пика, мВсек

Результаты в таблице должны быть приведены как средние из 2 измерений. После таблицы, основываясь на результатах анализа образца действующими стандартными методиками и результатах оценки подлинности вина методом капиллярного электрофореза, делают вывод о виноградном происхождении вина. При отсутствии всех пиков или одной из групп пиков виноматериал или вино признают фальсифицированным. При наличии всех групп пиков, но при площадях меньше минимально указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал или вино признают имеющим натуральную основу, но разбавленным водно-спиртовой смесью. При наличии всех групп пиков при значениях площадей в пределах указанных в таблице данных по обработке параметров пиков - виноматериал

или вино признают натуральным, имеющим виноградное происхождение. Превышение максимального значения площадей для любого из группы пиков свидетельствует о его виноградном происхождении и нарушениях технологического режима.

11. Допустимая погрешность контроля

Допустимая погрешность контроля по временам выхода пиков пробы, ширины, высоты и площади не должна превышать 10 %.

12. Техника безопасности работ

Техника безопасности работ соблюдается согласно инструкциям по эксплуатации приборов.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

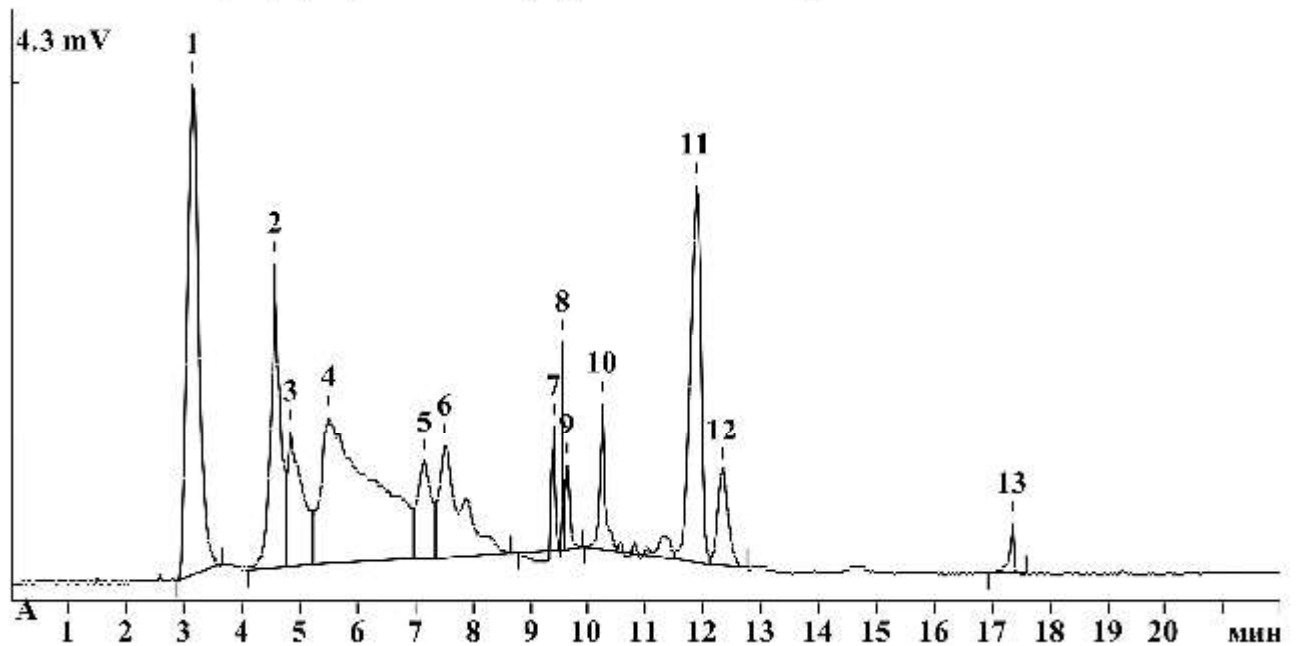
К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже техника, прошедшего соответствующий курс обучения или лица имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

13. Библиографические данные

Ключевые слова:

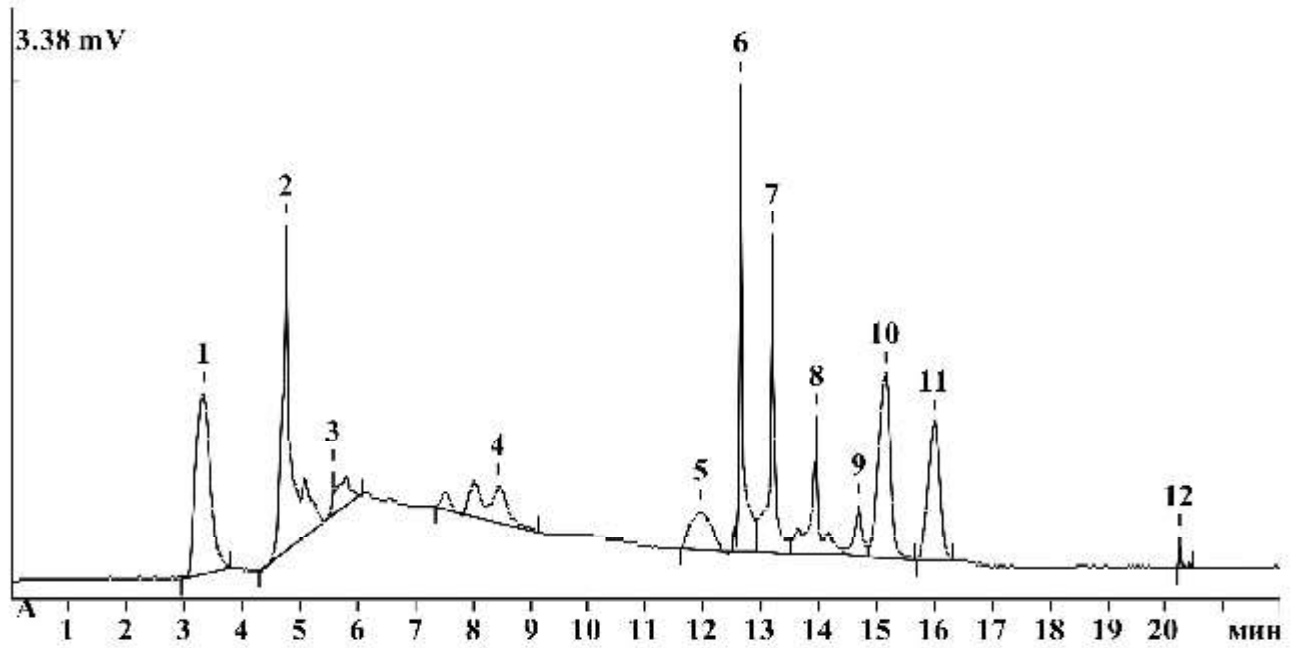
буферный раствор, вино, капиллярный электрофорез, электрофореграмма, время выхода пика, борная кислота.

Типовая электрофореграмма №1 (портвейн «Анапа»)



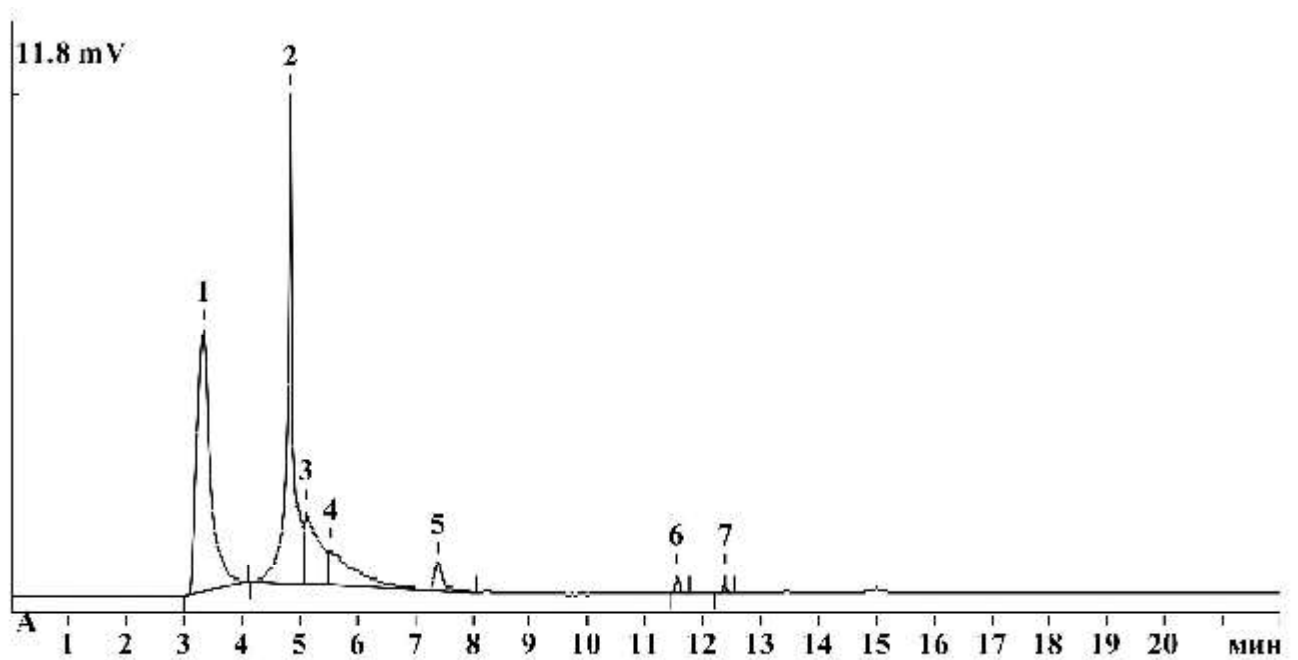
№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.139	0.212	4.0769	57.0605
2	4.543	0.151	2.5118	27.7738
3	4.820	0.302	1.1375	19.5431
4	5.499	1.041	1.2355	74.7595
5	7.136	0.382	0.8015	13.3537
6	7.506	0.358	0.9281	25.5022
7	9.368	0.057	1.0495	2.2789
8	9.553	0.021	1.5894	2.8342
9	9.620	0.071	0.7014	3.2368
10	10.224	0.067	1.2185	11.6575
11	11.873	0.202	3.1404	40.7218
12	12.307	0.178	0.8066	9.8059
13	17.326	0.054	0.4290	2.2790

Типовая электрофореграмма №2 (портвейн «Приморский», производство Анапского района)



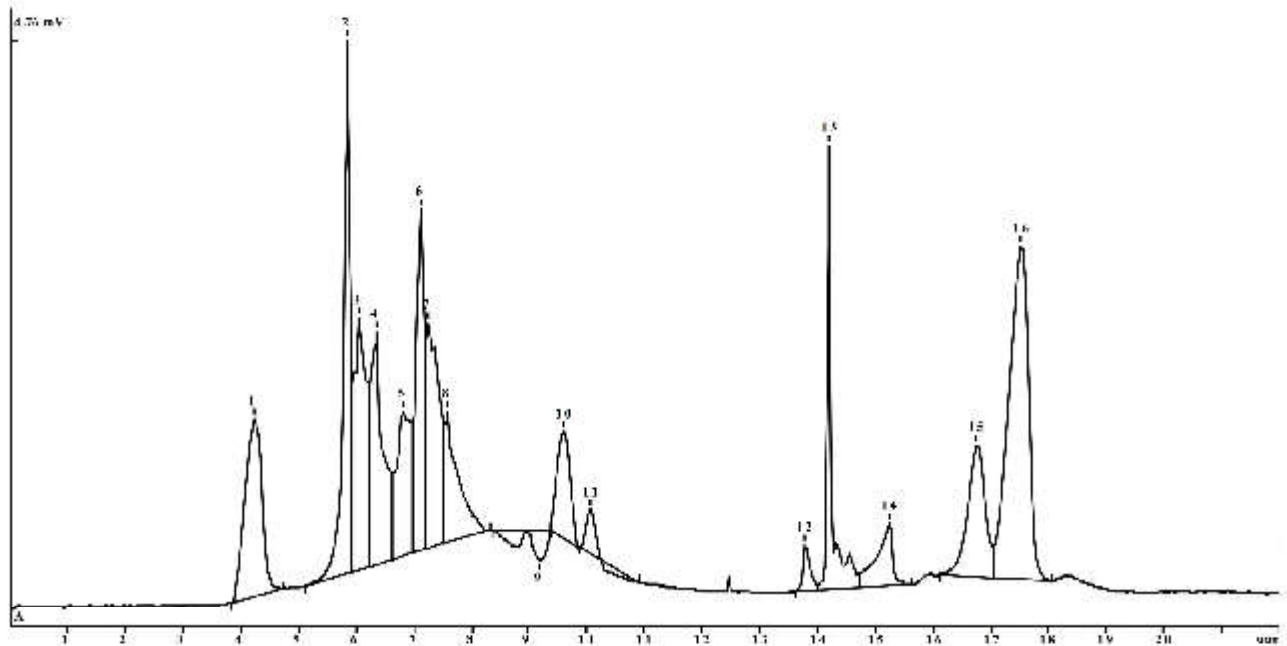
№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.305	0.280	1.1836	20.5538
2	4.739	0.070	2.0831	21.7071
3	5.575	0.257	0.2816	3.9708
4	8.436	0.447	0.2410	8.3838
5	11.925	0.408	0.2556	6.0313
6	12.615	0.038	2.9838	11.9310
7	13.182	0.042	2.0718	11.8929
8	13.924	0.056	0.9062	9.2148
9	14.667	0.121	0.3246	3.1977
10	15.131	0.220	1.2143	17.2490
11	15.977	0.223	0.9148	12.8467
12	20.232	0.008	0.0980	0.1269

Типовая электрофореграмма №3 (фальсифицированный портвейн «Анапа»)



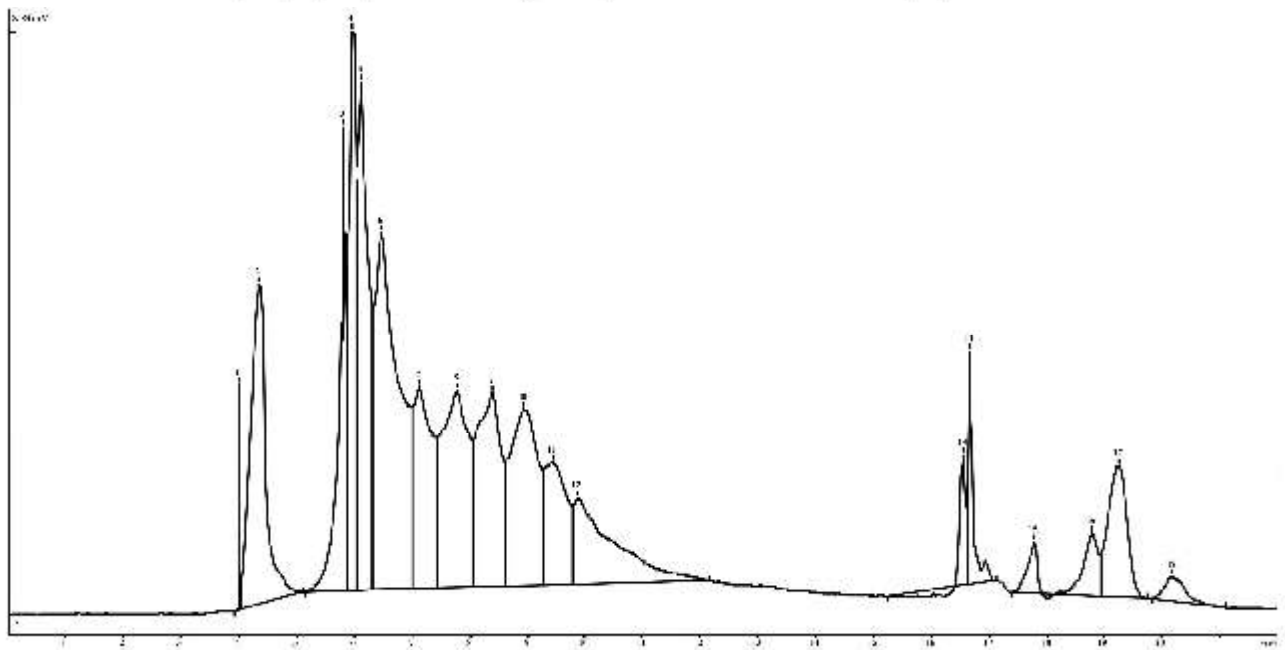
№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.311	0.240	5.9669	98.2878
2	4.828	0.044	10.0419	74.9134
3	5.089	0.355	1.6853	29.4112
4	5.514	0.412	0.8359	25.3004
5	7.374	0.132	0.6462	6.5581
6	11.517	0.049	0.4267	1.5150
7	12.343	0.026	0.4058	0.9856

Типовая электрофореграмма №4 (специальное вино «Букет Кубани»)



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	4.204	0.344	1.4469	29.7887
2	5.847	0.111	4.3331	33.7572
3	6.029	0.290	2.0329	29.0574
4	6.323	0.218	1.8947	28.3294
5	6.783	0.350	1.1824	20.5812
6	7.107	0.191	2.7742	26.9708
7	7.235	0.320	1.8329	27.7520
8	7.557	0.240	1.0644	16.8295
9	9.157	0.599	-0.2376	-6.3258
10	9.583	0.260	0.8608	13.4486
11	10.047	0.179	0.3495	2.2460
12	13.769	0.119	0.3745	3.1610
13	14.163	0.053	3.5774	19.6451
14	15.229	0.261	0.5047	9.7511
15	16.746	0.311	1.0685	22.6362
16	17.517	0.376	2.7034	64.4672

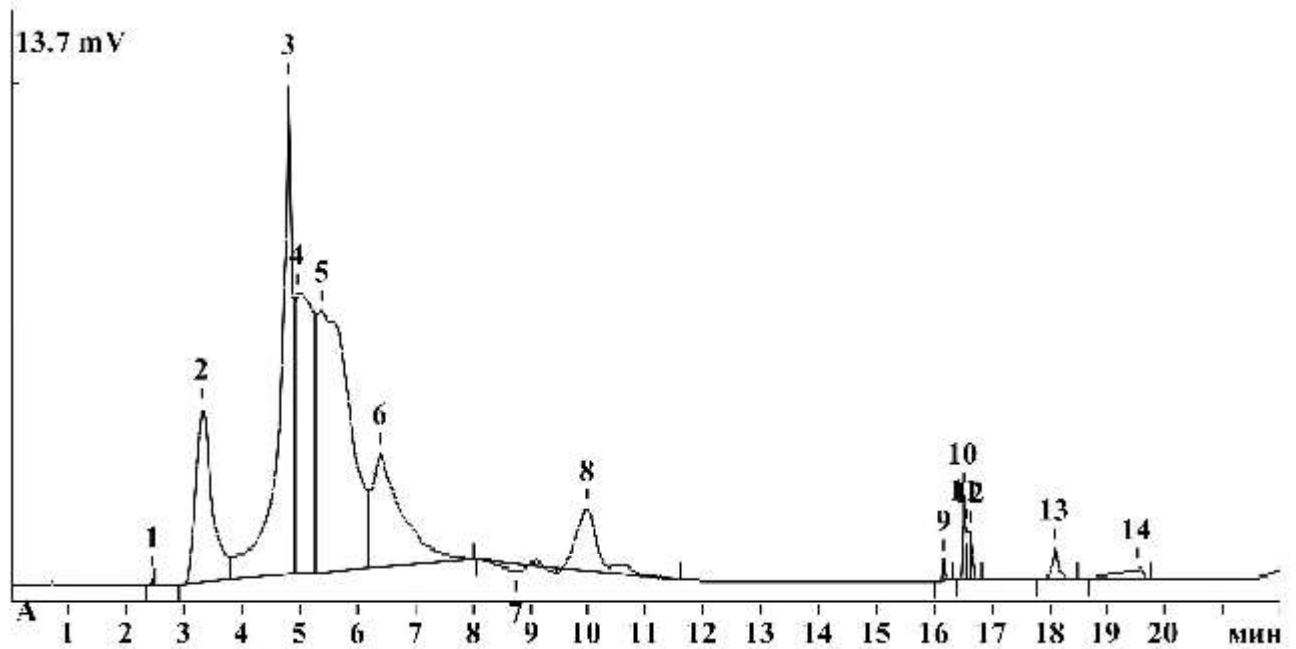
Типовая электрофореграмма №5 (специальное вино «Кагор»)



No	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	3.994	0.008	1.6365	2.0068
2	4.347	0.267	4.6937	87.4741
3	5.803	0.149	5.4186	58.9798
4	5.950	0.168	8.1786	68.0595
5	6.093	0.278	7.4626	93.8125
6	6.448	0.663	5.2375	147.2243
7	7.104	0.435	2.9570	66.6895
8	7.747	0.623	2.9016	92.0422
9	8.379	0.573	2.8457	81.8954
10	8.928	0.667	2.5973	86.2323
11	9.415	0.493	1.7854	45.7647
12	9.861	0.660	1.2623	61.5526
13	16.512	0.135	1.9188	8.2590
14	16.660	0.056	3.4093	18.5864
15	17.770	0.171	0.7534	8.0748
16	18.768	0.282	0.9113	15.8701
17	19.221	0.379	1.9155	44.3168
18	20.177	0.372	0.3588	9.0835

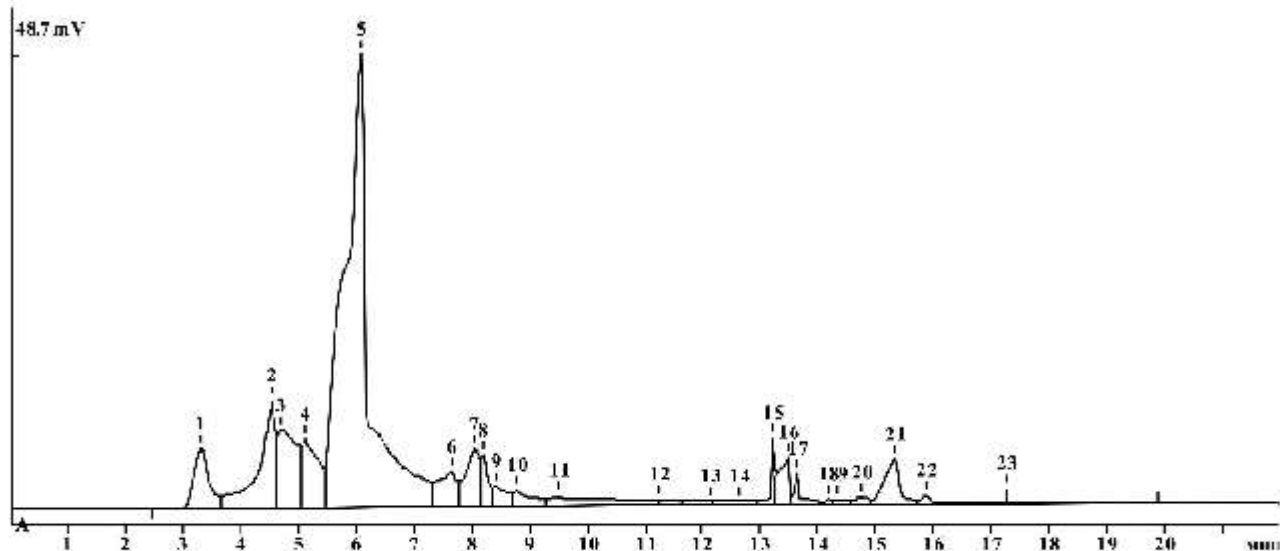
Продолжение приложения Б

Типовая электрофореграмма №6 (красное натуральное полусладкое вино)



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV*сек
1	2.429	0.008	0.1128	0.1309
2	3.303	0.279	4.6067	91.9385
3	4.785	0.210	13.0157	197.0996
4	4.946	0.378	7.4639	163.0933
5	5.354	0.643	6.9455	272.1641
6	6.379	0.542	3.0141	109.9773
7	8.726	0.846	-0.2022	5.1978
8	9.967	0.351	1.6361	43.3351
9	16.146	0.028	0.5430	1.1957
10	16.481	0.023	2.1786	4.0345
11	16.547	0.078	1.3977	5.8071
12	16.608	0.053	1.2631	4.2760
13	18.079	0.074	0.8379	5.9111
14	19.525	0.575	0.2689	8.6012

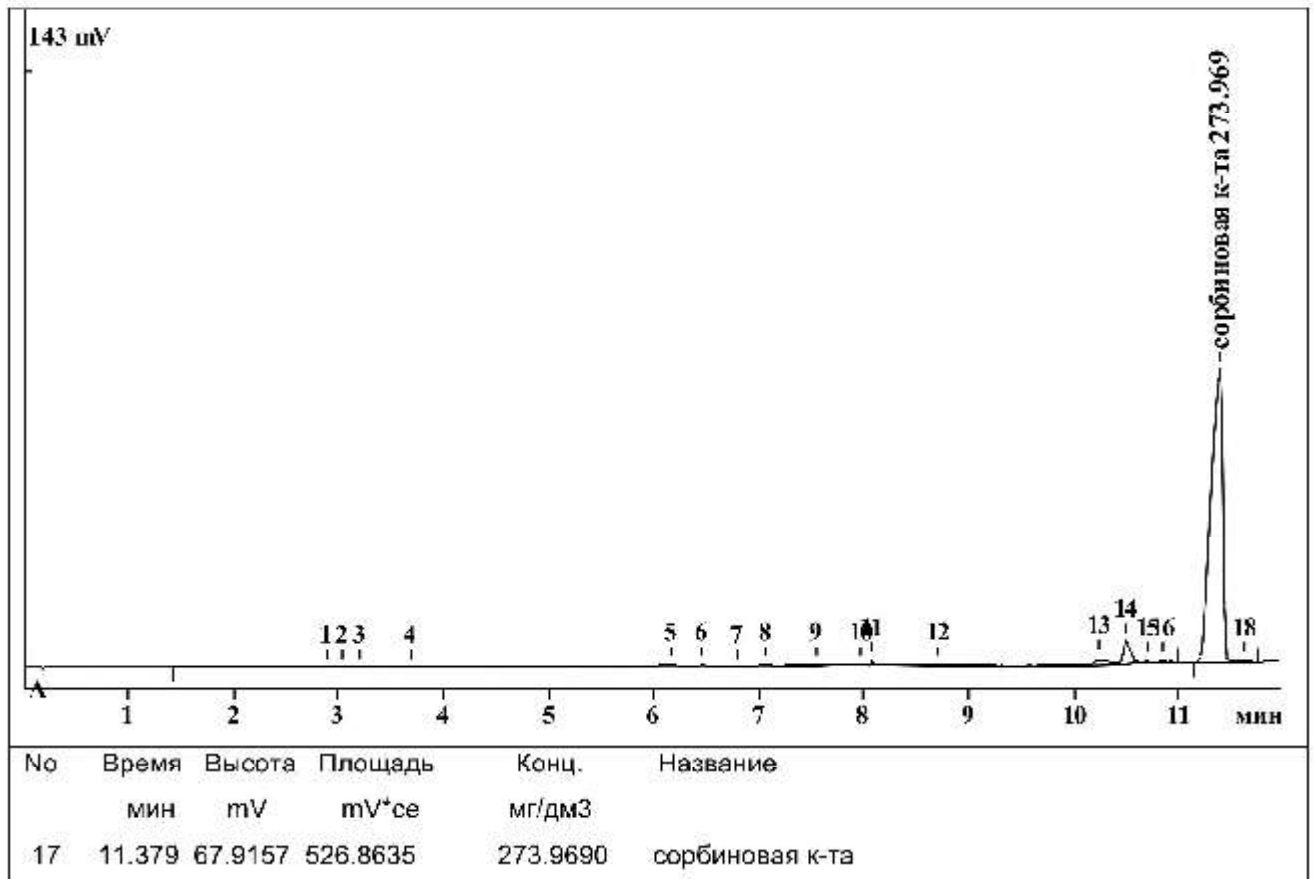
Типовая электрофореграмма №7 (красное натуральное полусладкое вино, содержащее добавку сорбиновой кислоты). Пик №5 соответствует сорбиновой кислоте



№	Время мин	Ширина мин	Высота mV	Площадь mV ² сек
1	3.284	0.259	6.0798	110.6649
2	4.497	0.243	11.0618	219.8204 1163
3	4.672	0.419	8.0294	180.6042 977
4	5.082	0.410	7.0658	136.2417 1572
5	6.061	0.400	47.0975	1401.8422 937
6	7.630	0.446	3.6335	77.9042 2872
7	8.023	0.278	6.0008	98.4015 5413
8	8.177	0.131	5.1606	43.7041 21106
9	8.403	0.354	2.0388	36.7088 4930
10	8.763	0.410	1.6922	37.6310 3533
11	9.489	1.415	0.9516	75.1443 381
12	11.240	0.405	0.5411	10.7787 8334
13	12.128	0.539	0.4758	13.9118 4589
14	12.621	0.771	0.4988	19.7909 2308
15	13.208	0.052	6.8365	29.1575 218393
16	13.462	0.235	4.9634	56.7645 30800
17	13.617	0.069	3.2259	25.2535 67926
18	14.158	0.215	0.4742	4.3843 53500
19	14.309	0.302	0.4707	6.7599 23931
20	14.752	0.274	0.7595	12.3991 18516
21	15.305	0.281	4.6029	86.4255 15026
<u>22</u>	<u>17.237</u>	<u>0.011</u>	<u>1.0971</u>	<u>9.1038 209450</u>
23	21.998	0.351	123.6713	2707.5547 31310

Продолжение приложения Б

Типовая электрофореграмма №8 (красное натуральное полусладкое вино, содержащее добавку сорбиновой кислоты). Идентификация сорбиновой кислоты методом добавки проведена в тех же условиях, что приведены в РД, но без подачи пробы в капилляр в течение 300 секунд.



Приложение В (рекомендуемое) - проверка правильности определения подлинности вина.

Проверку правильности определения проводят согласно инструкции прибора или с применением маркеров – миндальной, сиреневой, галловой кислот.

В случае определения подлинности натуральных виноградных вин и получения в данном режиме анализа площадей пиков по всем группам, отличающихся в 2 и более раз от приведенных в таблице свидетельства аттестации, следует установить интервалы изменения площадей пиков для данного прибора.

Интервалы устанавливаются путем записи контрольных растворов характерных веществ для натуральных виноградных вин на данном приборе капиллярного электрофореза. Интервал площадей пиков средней группы – по сиреневой и миндальной кислотам, пиков заключительной группы – по галловой кислоте (табл.). Растворы указанных веществ готовят весовым методом в 20%-ном растворе спирта в воде. Срок хранения растворов в холодильнике (+4°C) не более 1 месяца.

Таблица – Состав контрольной смеси для установления минимального (смесь №1) и максимального (смесь №2) значения интервала изменения площадей пиков в группе

<i>d.</i> <i>ние пика</i>	<i>Наименова</i> Наименование вещества контрольной смеси	Смесь №1 для минимального значения, мг/дм ³	Смесь №2, для максимального значения, мг/дм ³
для белых вин (натуральных полусладких, специальных - портвейны, мадера, херес и другие)			
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	4	40
	Сиреневая кислота	4	40
Пики заключительной группы	<i>e.</i> Галловая кислота	5	50
для красных вин (натуральных полусладких, специальных - кагор, портвейны и другие)			
Основные пики средней группы	Миндальная кислота	30	250
	Сиреневая кислота	30	250
Пики заключительной группы	Галловая кислота	10	60

Руководитель предприятия
разработчика и его именование



личная подпись

Директор ГНУ
СКЗНИИСиВ
Россельхозакадемии,
д.э.н.

Егоров Е.А.
расшифровка
подписи

Руководитель подразделения
разработчика

личная подпись

Руководитель
научного центра
виноделия, д.с-х.н.,

Гугучкина Т.И.
расшифровка
подписи

Руководитель разработки, должность

личная подпись

Агеева Н.М., в.н.с.,
д.т.н.

расшифровка
подписи

Исполнители, должности

Ажогина В.А., с.н.с.,
к.т.н.

личная подпись

Якуба Ю.Ф., с.н.с.,
к.т.н.

расшифровка
подписи