



Application Note AN-S-396

Evaluación de la calidad del vino con IC

Organic acid analysis using suppressed conductivity detection

La naturaleza y la concentración de los ácidos orgánicos son parámetros importantes en enología. Afectan las propiedades organolépticas (color, sabor y aroma), la estabilidad del vino y ayudan a rastrear los procesos de alteración y la autenticidad del vino. [1]. El ácido tartárico y el ácido málico representan la mayor fracción de ácidos orgánicos en el vino, provenientes de las propias uvas. El ácido tartárico libre disminuye durante el almacenamiento del vino cuando se une a otros componentes y precipita, y el ácido málico puede metabolizarse a ácido láctico. Otros ácidos orgánicos se forman como productos durante la fermentación alcohólica. [1] influenciando el sabor. El ácido acético, por ejemplo, provoca un sabor a vinagre indeseable. En general, el control de los ácidos orgánicos es crucial para mejorar el sabor y la calidad, y para cumplir con los criterios

estandarizados universales, como el Código Internacional de Prácticas Enológicas. [2]. Desde el punto de vista analítico, los ácidos orgánicos se pueden determinar correctamente con la cromatografía iónica (CI) y con la detección de conductividad suprimida. Como método de múltiples componentes, también se pueden determinar los ácidos inorgánicos, que además son valiosos indicadores de la calidad y del sabor del vino. Esta Application Note presenta dos métodos de CI para el análisis de la calidad del vino: un método rápido de detección isocrática de los principales ácidos orgánicos y aniones, incluido el sulfito, y un método de monitorización complejo con un gradiente binario para separar 15 ácidos orgánicos. Se utilizó la ultrafiltración inline para el tratamiento económico de las muestras.

SAMPLE AND SAMPLE PREPARATION

Las muestras de vino tinto y blanco se diluyeron (10-50 veces) en agua ultrapura (UPW). Para minimizar la oxidación, los viales se taparon con tapas de poliéster. Usando ultrafiltración en línea, las muestras se

filtraron automáticamente a través de una membrana de 0,22 µm (celulosa regenerada) antes de la inyección.

EXPERIMENTAL

Dado que todos los ácidos orgánicos se ionizan fácilmente, sus bases conjugadas pueden analizarse mediante cromatografía iónica con detección de conductividad suprimida.

Para **análisis de cribado rápido** la separación cromatográfica se realizó en una columna A Metrosep A Supp 10 con elución isocrática (**Figura 1**). En menos de 20 minutos se separan los ácidos orgánicos

acetato, malato, tartrato, oxalato y los aniones cloruro, fosfato, sulfito y sulfato. El sulfito se calibró por separado para evitar una posible contaminación por sulfato. Se estabilizó con 2-propanol (2% en soluciones estándar de trabajo). Aunque el sulfito se puede determinar dentro de esta serie de componentes múltiples, para un análisis de sulfito específico, consulte los métodos descritos. [3].

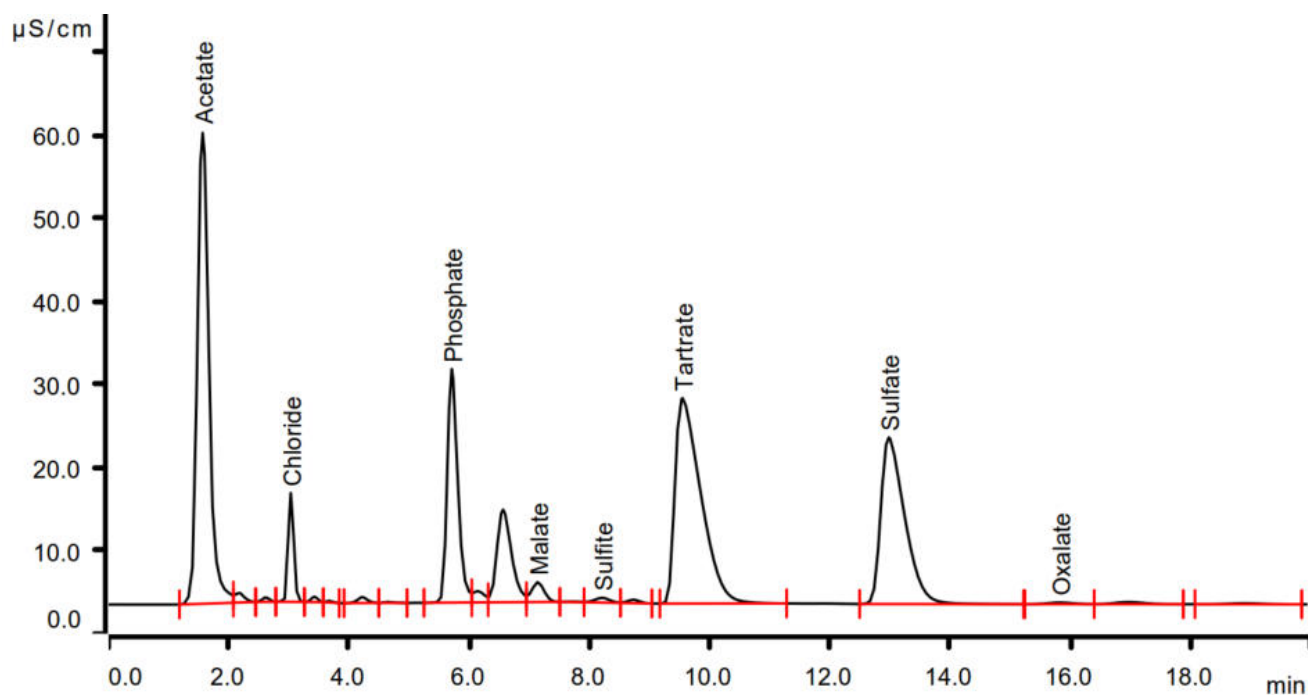


Figure 1. Análisis de cribado rápido de los principales ácidos orgánicos (acetato (no cuantificado), malato (105 mg/L), tartrato (1534 mg/L) y oxalato (<10 mg/L)) y aniones principales (cloruro (22 mg/L), fosfato (818 mg/L), sulfito (29 mg/L) y sulfato (367 mg/L)) en una muestra de vino blanco (volumen de inyección 20 µL). La elución isocrática se realizó en un Metrosep A Supp 10 - 100/ 4.0 columna utilizando un eluyente de carbonato. (5,0 mmol/L Na₂CO₃ + 5,0 mmol/L NaHCO₃ + 5 µmol/L HClO₄, caudal 1 mL/min, temperatura de la columna 35 °C). La detección de conductividad suprimida permite la detección con un fondo bajo para la detección en el rango inferior de mg/L.

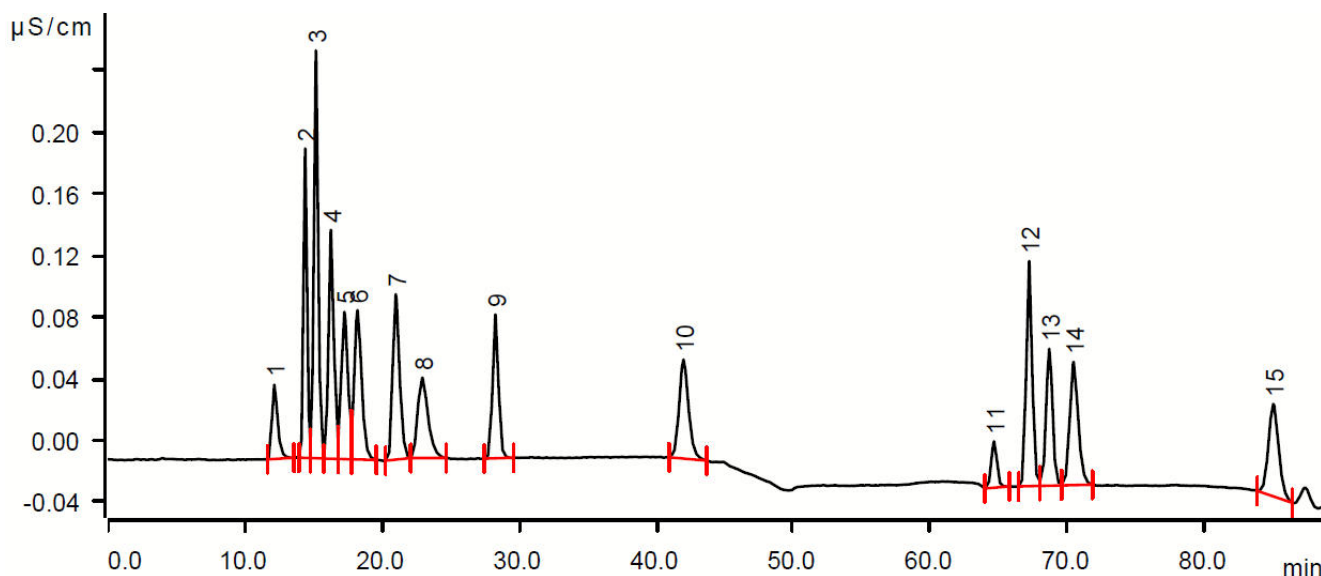


Figure 2. La figura muestra la señal de conductividad suprimida para el control de ácidos orgánicos complejos de gluconato (1), lactato (2), acetato (3), propionato (4), isobutirato (5), butirato (6), metacrilato (7), valerato (8), sulfato de metilo (9), dicloroacetato (10), malonato (11), malato (12), glutarato (13), adipato (14) y ftalato (15) en un estándar mixto de 1 mg/L (volumen de inyección 20 µL). La separación se realizó en una columna Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 con gradiente binario (eluyente A: agua ultrapura, eluyente B: 6,4 mmol/L Na₂CO₃ + 2,0 mmol/L NaHCO₃, caudal 0,7 mL/min, temperatura de la columna 45 °C).

Una visión completa de la composición de ácidos orgánicos para **monitoreo complejo** se puede obtener por separación con una columna Metrosep A Supp 7 utilizando un gradiente binario (**Figura 2**). Con el gradiente de carbonato-UPW se pudieron resolver los

siguientes 15 ácidos orgánicos: gluconato, lactato, acetato, propionato, isobutirato, butirato, metacrilato, valerato, sulfato de metilo, dicloroacetato, malonato, malato, glutarato, adipato y ftalato.

El montaje experimental se muestra en **figura 3**.

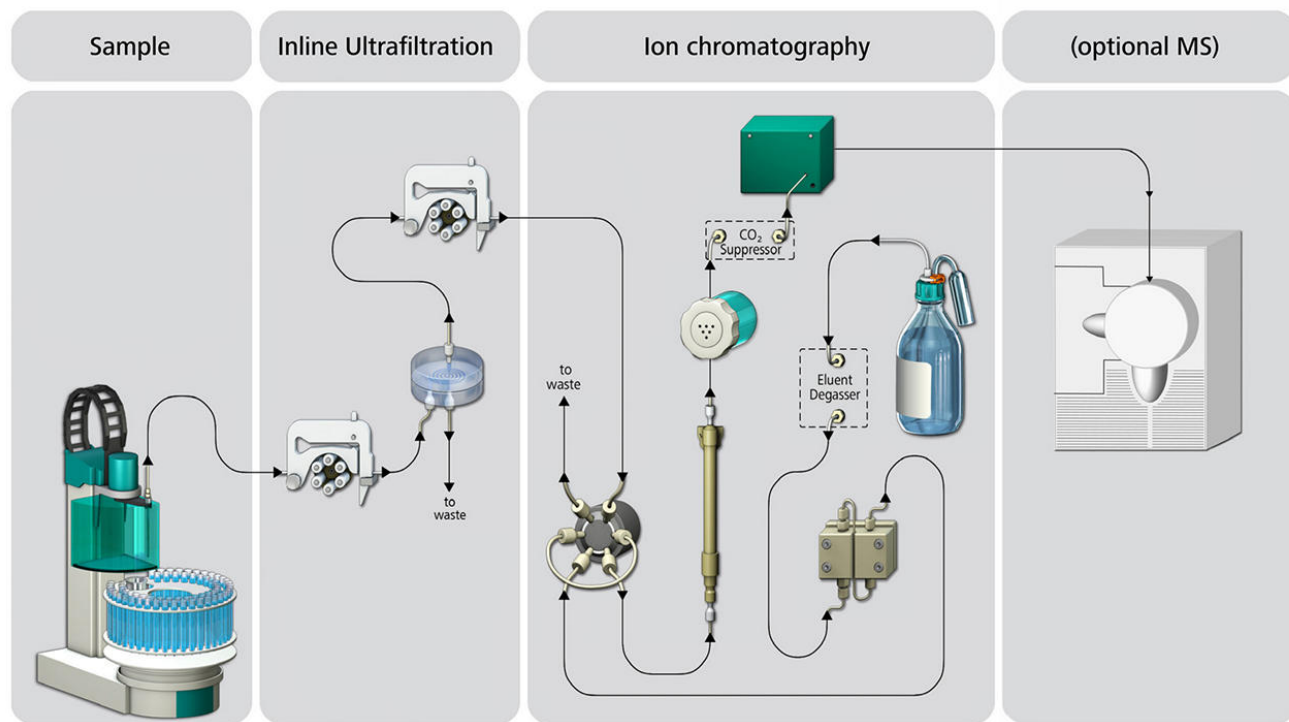


Figure 3. Ruta de flujo esquemática para el análisis de cribado rápido de ácidos orgánicos y aniones con cromatografía iónica y detección de conductividad suprimida. Como paso de preparación de muestras, la ultrafiltración en línea se utiliza para optimizar el análisis general en términos de tiempo y gastos de laboratorio. Después de la introducción de la muestra (858 Professional Sample Processor), la muestra pasa por la celda de ultrafiltración. Las muestras se filtran con una membrana de celulosa regenerada de 0,2 µm. Se pueden analizar hasta 100 muestras, dependiendo de la matriz, antes de cambiar la membrana y con menos del 0,1 % de transferencia, lo que acelera este proceso inevitable en los análisis de rutina. Después de la inyección y la separación con una columna de aniones de alta capacidad, la supresión secuencial elimina los cationes y el carbonato, lo que da como resultado una señal de fondo muy baja en el detector de conductividad. Para el monitoreo de ácidos orgánicos complejos, es necesario agregar al sistema una segunda bomba de alta presión y un capilar de mezcla. La conexión de la salida del detector de conductividad a un espectrómetro de masas puede ser una adición valiosa para la confirmación de picos e incluso mejores límites de detección.

RESULTS

los **análisis de cribado rápido** de ácidos orgánicos y aniones tomó menos de 20 minutos. El tartrato fue el principal ácido orgánico en ambas muestras y el fosfato y el sulfato los aniones dominantes, con contenidos ligeramente más bajos en vino blanco

para tartrato y sulfato (**tabla 1**). Las inyecciones por triplicado mostraron una desviación estándar relativa de menos del 2% tanto para el vino blanco como para el vino tinto (**tabla 1**).

Tabla 1. Ácidos orgánicos y aniones cuantificados en una muestra de vino tinto y blanco. La dilución de la muestra se realizó en UPW con un factor de dilución de 10 (50 para tartrato). Las muestras se analizaron con el análisis de cribado rápido que resuelve los principales ácidos orgánicos y aniones en las muestras de vino.

Analito	vino tinto (mg/L) (RSD)	vino blanco (mg/L) (RSD)
Cloruro	60 (0,03%)	22 (0,04%)
Fosfato	771 (0,2%)	818 (0,1%)
Malato	92 (0,1%)	105 (0,2%)
Sulfito	27 (2%)	29 (0,4%)
tartrato	1756 (0,1%)	1534 (0,6%)
Sulfato	553 (0,01%)	367 (0,01%)
Oxalato	<10	<10

Una elución en gradiente mejoró la resolución máxima para un análisis de seguimiento complejo de 15 ácidos orgánicos. La detección de conductividad suprimida permitió una detección sensible en un rango de trabajo de 0,1 a 5 mg/L.

Ambos métodos muestran un rendimiento excelente en el rango inferior de mg/L. La detección de la señal

de conductividad suprimida omite las interferencias de los componentes activos UV que se ven con la detección UV. Preparación de muestras con **Ultrafiltración en línea** hace que este paso inevitable (generalmente manual) sea rentable y rentable, al mismo tiempo que garantiza la protección de la columna.

CONCLUSION

Los perfiles de composición iónica en los vinos se cuantifican fácilmente con IC y detección de conductividad. La cromatografía de intercambio iónico permite la determinación simultánea de aniones inorgánicos y ácidos orgánicos en una sola ejecución, en contraste con la exclusión iónica que solo separa los ácidos orgánicos. Con el **análisis de cribado rápido de múltiples componentes** se puede maximizar el rendimiento de muestras en los laboratorios. La preparación de muestras se puede facilitar con la ultrafiltración en línea, protegiendo la columna y mejorando el rendimiento del instrumento. Se puede lograr un mayor aumento del potencial económico mediante la combinación con Metrohm Inline Dilution, incluida la posibilidad de calibración

automática. El paso de dilución manual propenso a errores de muestras y estándares se omite mientras se ahorra tiempo de laboratorio y se mejora la exactitud y la precisión.

los **monitoreo de ácidos orgánicos complejos** con la detección de conductividad suprimida se beneficia de una mayor sensibilidad en comparación con los métodos de detección UV y reduce las interferencias de los azúcares y fenoles activos UV en tales muestras de vino.

Si la identidad del pico necesita confirmación, o se requieren límites de detección muy bajos, la configuración del IC se puede combinar con un detector de masa específica sensible (**figura 3**).

REFERENCES

1. Waterhouse et al. (2016), John Wiley & Sons; Hijos, Reino Unido, ISBN 1118627806
2. Organización Internacional de la Vitis y el Vino (OIV) (2021), OIV, Francia, ISBN 978-2-85038-030-3

Internal references: AW IC US6-0249-062017; AW IC

3. metrohm, WP-065 Determinación simplificada de sulfitos en alimentos y bebidas mediante cromatografía iónica

CH6-1266-012016

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURATION



940 Professional IC Vario ONE/SeS/HPG

El 940 Professional IC Vario ONE/SeS/HPG es un aparato CI inteligente con **supresión secuencial** y **gradiente de alta presión binario**. Con el 942 Extension Module se puede ampliar hasta un sistema de gradiente cuaternario. Para la regeneración del supresor se puede emplear un 800 Dosino. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aplicaciones de gradiente para la determinación de aniones o cationes con supresión secuencial



IC Conductivity Detector

Detector de conductividad de alto rendimiento, inteligente y compacto para los aparatos CI inteligentes. La extraordinaria constancia de temperatura, el tratamiento completo de la señal dentro del bloque detector protegido y DSP (tratamiento digital de la señal controlado por microprocesador) de última generación garantizan la máxima precisión de la medida. Gracias a la zona de trabajo dinámica no es necesario el cambio de la zona (ni siquiera automático).



Metrosep A Supp 7 - 250/4,0

Se sospecha que los subproductos del tratamiento del agua (subproductos de la desinfección) no solo pueden resultar nocivos para la salud, sino también ser cancerígenos. Por eso, los oxohalogenuros han sido objeto de muchos estudios y normas (p. ej. EPA 300.1 parte B, EPA 317.0, EPA 326.0). En particular, se trata del bromato que se forma en la ozonificación de agua potable a partir de bromuro. La Metrosep A Supp 7 - 250/4,0 es una columna de separación de alto rendimiento para la determinación paralela de aniones estándar, oxohalogenuros y ácido dicloroacético. Con esta columna es posible determinar estos iones hasta la gama de $\mu\text{g/L}$ inferior de forma segura y precisa. La alta sensibilidad de detección se logra usando el polímero de alcohol polivinílico de $5\ \mu\text{m}$ con el que pueden alcanzarse números de platos extremadamente elevados y con ellos excelentes propiedades de separación y detección. Además, es posible adaptar la separación a las exigencias específicas de la aplicación modificando la temperatura.



858 Professional Sample Processor – Pump

El 858 Professional Sample Processor – Pump procesa muestras de $500\ \mu\text{L}$ a $500\ \text{mL}$. La transferencia de muestras se realiza por medio de la bomba peristáltica de dos canales bidireccional integrada o con un 800 Dosino.



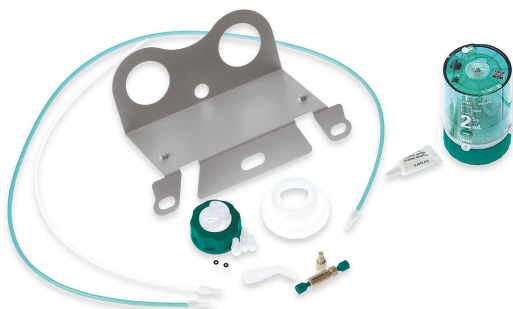
800 Dosino

El 800 Dosino es un accionamiento con hardware de grabación/lectura para Unidades de dosificación inteligentes. Con cable fijo (150 cm).



MSM-HC Rotor A

Rotor de supresor para todos los aparatos CI con MSM-HC (módulo supresor Metrohm de alta capacidad)



Juego de accesorios CI: Dosino, regeneración

Set de accesorios para el montaje de un Dosino para la regeneración automática de Metrohm Suppressor Module (MSM).