



Application Note AN-S-396

Valutazione della qualità del vino con IC

Analisi degli acidi organici mediante rilevamento della conducibilità con soppressione

La natura e la concentrazione degli acidi organici sono parametri importanti in enologia. Influiscono sulle proprietà organolettiche (colore, sapore e aroma), sulla stabilità del vino e aiutano a tracciare i processi di alterazione e la genuinità del vino [1]. L'acido tartarico e l'acido malico rappresentano la frazione maggiore di acidi organici nel vino, provenienti dalle uve stesse. L'acido tartarico libero diminuisce durante la conservazione del vino quando si lega ad altri componenti e precipita mentre l'acido malico può metabolizzarsi in acido lattico. Altri acidi organici si formano come prodotti durante la fermentazione alcolica [1] sapore d'influenza. L'acido acetico, ad esempio, provoca un sapore di aceto indesiderato. Nel complesso, il monitoraggio degli acidi organici è fondamentale per migliorare il sapore e la qualità e

per soddisfare criteri standardizzati universali come il Codice internazionale delle pratiche enologiche [2]. Dal punto di vista analitico, è possibile determinare correttamente gli acidi organici mediante cromatografia ionica (IC) e il rilevamento della conducibilità con soppressione. Poiché si tratta di un metodo a più componenti, è possibile individuare anche gli acidi inorganici che pure rappresentano preziosi tracciatori di sapore e qualità del vino. In questa Application Note si presentano due metodi IC per l'analisi della qualità del vino: un metodo di screening isocratico rapido dei principali acidi organici e anioni, tra cui i solfiti, e un metodo di monitoraggio complesso con un gradiente binario per separare 15 acidi organici. Per il trattamento economico del campione è stata utilizzata l'ultrafiltrazione in linea.

CAMPIONE E PREPARAZIONE CAMPIONE

I campioni di vino rosso e bianco sono stati diluiti (10-50 volte) in acqua ultrapura (UPW). Per ridurre al minimo l'ossidazione, le fiale sono state ricoperte con coperchi in poliestere. Utilizzando l'ultrafiltrazione in

linea, i campioni sono stati filtrati automaticamente attraverso una membrana da 0,22 µm (cellulosa rigenerata) prima dell'iniezione.

ANALISI

Poiché tutti gli acidi organici si ionizzano facilmente, le loro basi coniugate possono essere analizzate mediante cromatografia ionica con rilevamento della conduttività soppressa.

Per l'**analisi di screening veloce**, la separazione cromatografica è stata eseguita su colonna A Metrosep A Supp 10 con eluizione isocratica (Figura 1). In meno di 20 minuti vengono separati gli acidi organici: acetato, malato, tartrato, ossalato e gli

anioni cloruro, fosfato, solfito e solfato. Il solfito è stato calibrato separatamente per evitare una potenziale contaminazione da solfato. È stato stabilizzato con 2-propanolo (2% in soluzioni standard di lavoro). Sebbene il solfito possa essere determinato all'interno di questa corsa multicomponente, per l'analisi dedicata del solfito fai riferimento ai metodi descritti [3].

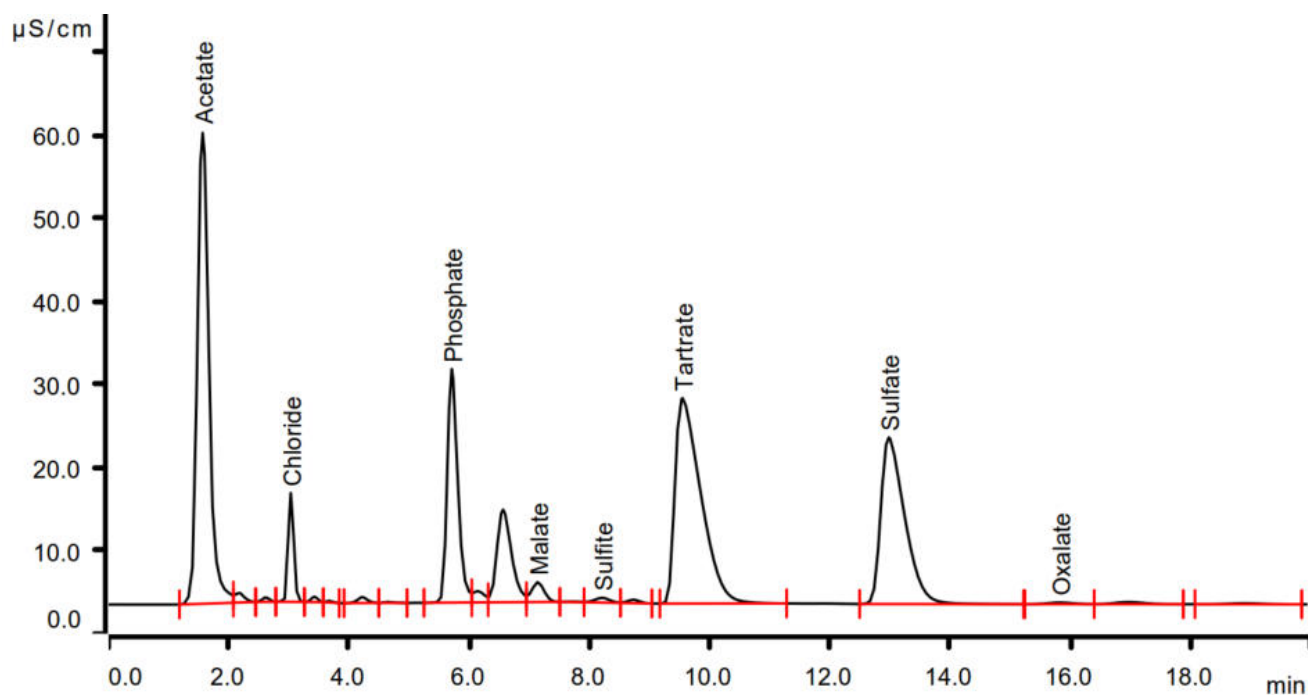


Figure 1. Analisi rapida dello screening dei principali acidi organici (acetato (non quantificato), malato (105 mg/l), tartrato (1534 mg/l) e ossalato (<10 mg/l)) e anioni maggiori (cloruro (22 mg/l), fosfato (818 mg/L), solfito (29 mg/L) e solfato (367 mg/L)) in un campione di vino bianco (volume di iniezione 20 µL). L'eluizione isocratica è stata eseguita su un Metrosep A Supp 10 - 100/ Colonna 4.0 usando un eluente di carbonato. (5,0 mmol/L Na₂CO₃ + 5,0 mmol/L NaHCO₃ + 5 µmol/L HClO₄, portata 1 mL/min, temperatura della colonna 35 °C). Il rilevamento della conduttività soppressa consente il rilevamento con uno sfondo basso per il rilevamento nell'intervallo mg/L inferiore.

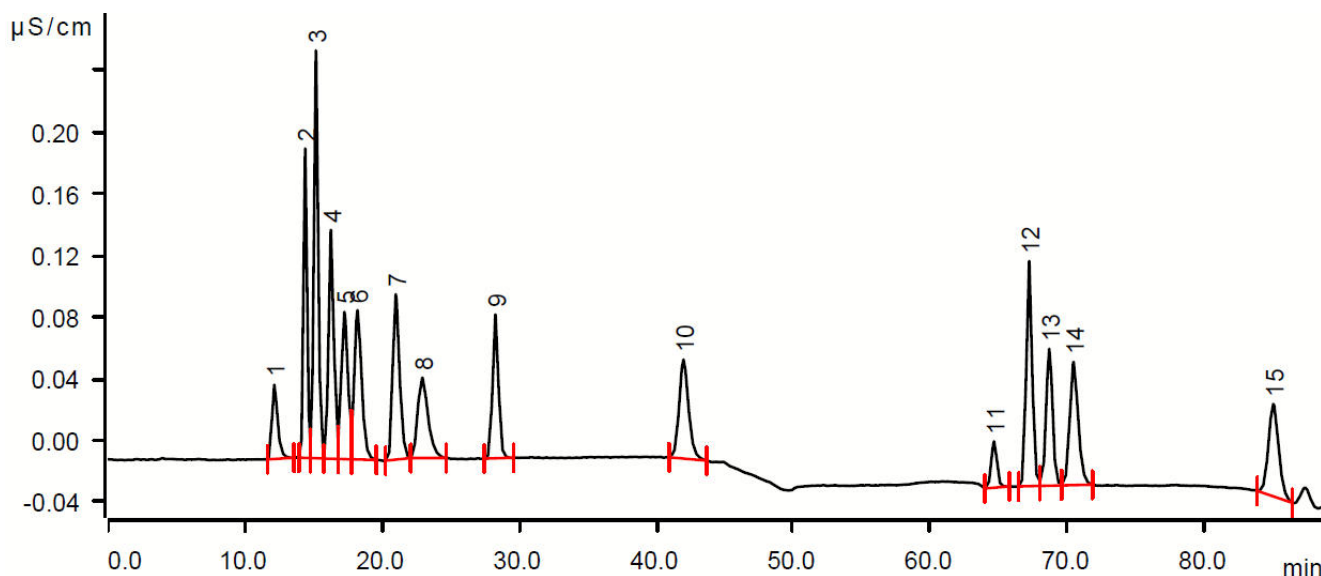


Figure 2. La figura mostra il segnale di conduttività soppressa per il monitoraggio dell'acido organico complesso di gluconato (1), lattato (2), acetato (3), propionato (4), iso-butilirato (5), butirrato (6), metacrilato (7), valerato (8), solfato di metile (9), dicloroacetato (10), malonato (11), malato (12), glutarato (13), adipato (14) e ftalato (15) in uno standard misto da 1 mg/L (volume di iniezione 20 µL). La separazione è avvenuta su una colonna Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 con un gradiente binario (eluente A: acqua ultrapura, eluente B: 6.4 mmol/L Na₂CO₃ + 2.0 mmol/L NaHCO₃, portata 0.7 mL/min, temperatura della colonna 45° C).

Una visione completa della composizione dell'acido organico per il **monitoraggio complesso** può essere ottenuto per separazione con una colonna Metrosep A Supp 7 utilizzando un gradiente binario (**figura 2**). Con il gradiente carbonato-UPW potrebbero essere

risolti i seguenti 15 acidi organici: gluconato, lattato, acetato, propionato, isobutirrato, butirrato, metacrilato, valerato, solfato di metile, dicloroacetato, malonato, malato, glutarato, adipato e ftalato. La configurazione sperimentale è mostrata in **Figura 3**.

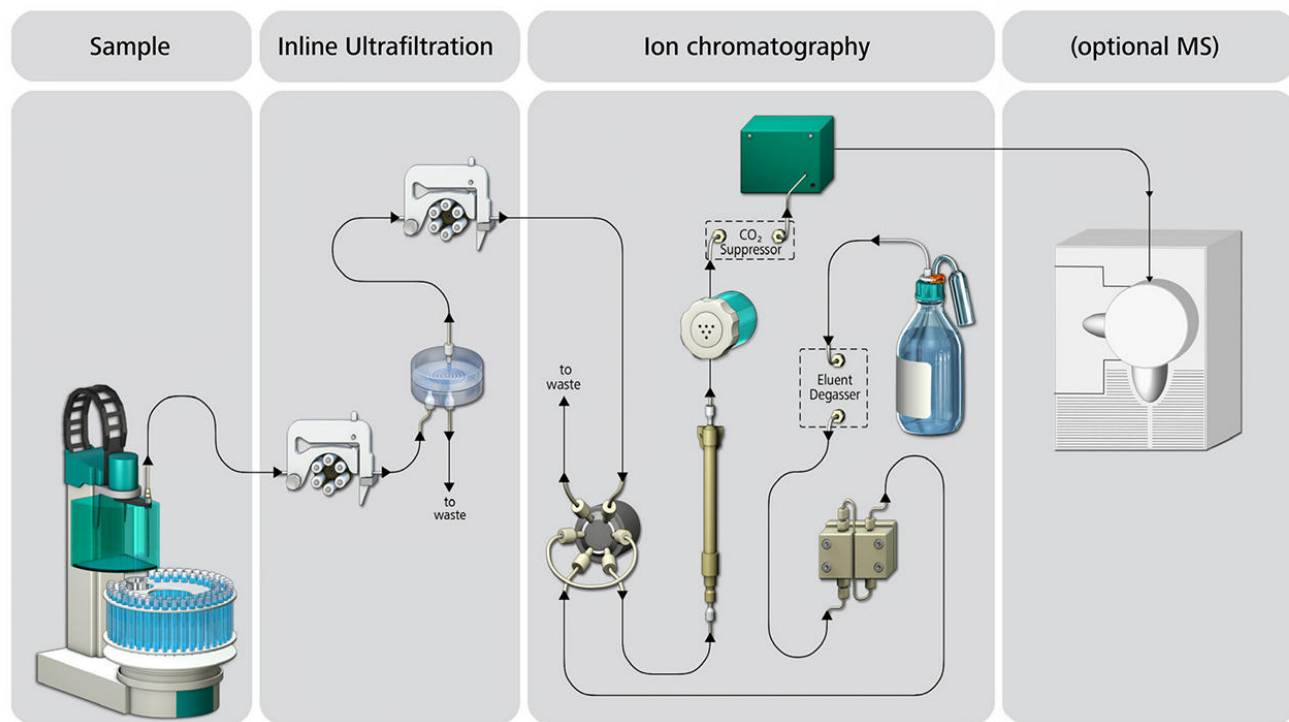


Figure 3. Percorso del flusso schematico per analisi di screening rapido di acidi organici e anioni con cromatografia ionica e rilevamento della conduttività soppressa. Come fase di preparazione del campione, l'ultrafiltrazione in linea viene utilizzata per ottimizzare l'analisi complessiva in termini di tempo e spese di laboratorio. Dopo l'introduzione del campione (858 Professional Sample Processor) il campione passa nella cella di ultrafiltrazione. I campioni vengono filtrati con una membrana di cellulosa rigenerata da 0,2 µm. È possibile analizzare fino a 100 campioni a seconda della matrice prima di sostituire la membrana e con un riporto inferiore allo 0,1%, accelerando questo processo inevitabile nelle analisi di routine. Dopo l'iniezione e la separazione con una colonna anionica ad alta capacità, la soppressione sequenziale rimuove i cationi e il carbonato determinando un segnale di fondo molto basso nel rivelatore di conduttività. Per il monitoraggio dell'acido organico complesso è necessario aggiungere al sistema una seconda pompa ad alta pressione e un capillare di miscelazione. Il collegamento dell'uscita del rivelatore di conduttività a uno spettrometro di massa può essere un'aggiunta preziosa per la conferma del picco e limiti di rilevamento ancora migliori.

RISULTATI

L'**analisi di screening veloce** di acidi organici e anioni ha impiegato meno di 20 minuti. Il tartrato era il principale acido organico in entrambi i campioni e fosfato e solfato gli anioni dominanti, con contenuti leggermente inferiori nel vino bianco per tartrato e

solfato (**Tabella 1**). Le iniezioni triplicate hanno mostrato una deviazione standard relativa inferiore al 2% sia per il vino bianco che per il vino rosso (**Tabella 1**).

Tabella 1. Acidi organici e anioni quantificati in un campione di vino rosso e bianco. La diluizione del campione è stata eseguita in UPW con un fattore di diluizione di 10 (50 per il tartrato). I campioni sono stati analizzati con l'analisi di screening rapido risolvendo i principali acidi organici e anioni nei campioni di vino.

Analita	vino rosso (mg/L) (RSD)	vino bianco (mg/L) (RSD)
Cloruro	60 (0,03%)	22 (0,04%)
Fosfati	771 (0,2%)	818 (0,1%)
Malato	92 (0,1%)	105 (0,2%)
Solfito	27 (2%)	29 (0,4%)
tartrato	1756 (0,1%)	1534 (0,6%)
Solfato	553 (0,01%)	367 (0,01%)
ossalato	<10	<10

Un'eluizione in gradiente ha migliorato la risoluzione del picco per un'analisi di monitoraggio complessa di 15 acidi organici. Il rilevamento della conducibilità soppressa ha consentito un rilevamento sensibile in un intervallo di lavoro compreso tra 0,1 e 5 mg/L. Entrambi i metodi mostrano prestazioni eccellenti nell'intervallo mg/l inferiore. Il rilevamento del

segnale di conducibilità soppressa omette le interferenze dai componenti UV-attivi visti con il rilevamento UV. Preparazione del campione con l'**Ultrafiltrazione in linea** rende questo passaggio inevitabile (generalmente manuale) sia in termini di tempo che di costi, garantendo al contempo la protezione della colonna.

CONCLUSIONE

I profili di composizione ionica nei vini sono prontamente quantificati con IC e rilevamento della conducibilità. La cromatografia a scambio ionico consente la determinazione simultanea di anioni inorganici e acidi organici in un'unica analisi, contrariamente all'esclusione ionica che separa solo gli acidi organici. Con l'**analisi veloce di screening multicomponente** la produttività dei campioni nei laboratori può essere massimizzata. La preparazione del campione può essere facilitata con l'ultrafiltrazione in linea, proteggendo la colonna e migliorando le prestazioni dello strumento. Un ulteriore aumento del potenziale economico può essere ottenuto in combinazione con Metrohm Inline

Dilution inclusa la possibilità di calibrazione automatica. La fase di diluizione manuale soggetta a errori di campioni e standard viene omessa mentre si risparmia tempo in laboratorio e si migliorano l'accuratezza e la precisione.

Il **monitoraggio degli acidi organici complessi** con il rilevamento della conduttività soppressa beneficia di una maggiore sensibilità rispetto ai metodi di rilevamento UV e di ridotte interferenze da zuccheri e fenoli UV-attivi in tali campioni di vino.

Se è necessario confermare l'identità del picco o se sono richiesti limiti di rilevamento molto bassi, la configurazione dell'IC può essere combinata con un rivelatore specifico di massa sensibile (**Figura 3**).

RIFERIMENTI

1. Waterhouse et al. (2016), John Wiley & Figli, Regno Unito, ISBN 1118627806
2. Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino (OIV) (2021), OIV, Francia, ISBN 978-2-85038-030-3

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

3. metrohm, WP-065 Determinazione semplificata del solfito in alimenti e bevande mediante cromatografia ionica

CH6-1266-012016

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



940 Professional IC Vario ONE/SeS/HPG

Il 940 Compact IC Vario ONE/SeS/HPG è l'intelligente strumento IC con **soppressione sequenziale** e con **gradiente binario di alta pressione**. Con i 942 Extension Module può essere espanso fino a un sistema gradiente quaternario. Per la rigenerazione del soppressore è possibile impiegare un 800 Dosino. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento.

Campi d'impiego tipici:

- Applicazioni di gradienti per la determinazione di anioni o cationi con soppressione sequenziale



IC Conductivity Detector

Rilevatore della conducibilità ad alte prestazioni compatto e intelligente per gli strumenti IC intelligenti. Eccellente stabilità di temperatura, la completa elaborazione del segnale all'interno del blocco del rivelatore protetto e DSP – Digital Signal Processing – di ultima generazione garantiscono la massima precisione della misura. Grazie al range dinamico di lavoro non sono necessari cambiamenti (anche non automatici) del range di misura.



Metrosep A Supp 7 - 250/4,0

I prodotti di disinfezione nel trattamento delle acque sono sospettati di essere non solo un rischio per la salute, ma anche cancerogeni. Per questo motivo gli ossialogenuri, sono diventati oggetto di molte ricerche e metodi standard (ad esempio, l'EPA 300.1 Parte B, EPA 317.0, EPA 326.0). Si tratta soprattutto del bromato che è generato dal bromuro durante il trattamento di ozonizzazione dell'acqua potabile. La Metrosep A Supp 7 - 250/4,0 rappresenta una colonna di separazione ad alta prestazione per la determinazione simultanea degli anioni standard, degli ossialogenuri e dell'acido dicloroacetico. Con questa colonna questi ioni possono essere determinati con precisione e affidabilità anche nella parte più bassa del range dei $\mu\text{g/L}$. L'eccezionale sensibilità di rilevamento si ottiene utilizzando polimeri di polivinilalcole da $5\ \mu\text{m}$; ciò permette di ottenere un numero di piatti molto elevato e di conseguenza eccellenti caratteristiche di separazione e di rivelazione. Inoltre la separazione può essere adattata alle esigenze applicative, modificando la temperatura.



858 Professional Sample Processor – Pump

L'858 Professional Sample Processor – Pump per il trattamento di campioni con volumi compresi tra $500\ \mu\text{L}$ e $500\ \text{mL}$. Il trasferimento del campione avviene o attraverso la pompa peristaltica bidirezionale a doppio canale integrata o tramite un 800 Dosino.



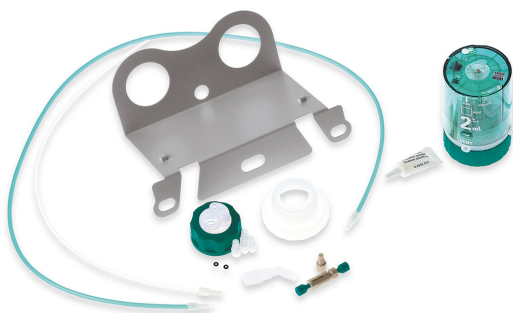
800 Dosino

800 Dosino è un drive con hardware di scrittura/lettura per Unità di dosaggio intelligenti. Con cavo fisso (150 cm).



MSM-HC Rotore A

Rotore soppressore per tutti gli strumenti IC con MSM-HC (Metrohm Suppressor Module con elevata capacità)



Equipaggiamento IC: Dosino, rigenerazione

Kit di accessori per il montaggio di un Dosino per la rigenerazione automatica del Metrohm Suppressor Module (MSM).