

Fehér direkttermő szőlőből készült borok identifikálása gáz- és rétegekromatográfiával

KEVEI JÁNOSNÉ

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1972. március 24.

Direkttermő Noah-szőlőből készült bort a bortörvény alapján tilos a kereskedelemben forgalomba hozni. E szőlők termesztése az állami és szövetkezeti szektorokban már erősen korlátozódott, de magántulajdonban levő szőlőkben még előfordul, s így bor is készül belőle, amit a termelők értékesíthetnek is.

A direkttermő Noah-szőlőből készült fehér borok jellegzetes illata, aromája – oltványyszőlőből készült borokhoz keverve – már nem, vagy csak gyakorlott bíráló által ismerhető fel, mégis ez a bor silányabb minőségű ital, mint a tiszta oltványyszőlő bora. Ezért kerül újra és újra előtérbe az a kérdés, hogyan lehetne a direkttermő (hibrid) szőlőkből készült borok felismerését objektív módszerrel elvégezni, különösen abban az esetben, ha azokat oltványborokhoz keverten hozzák forgalomba.

Vörös hibrid-boroknál már megoldották ezt a kérdést (*Ribereau – Gayon*, (1); *Sudraud*, (2)) e szőlők jellegzetes antocianin-festékének (malvidol- vagy malvosid-diglükozid) biztos és igen érzékeny kimutatásával.

A fehér direkttermő (hibrid) szőlőkből származó borok felismerése és kimutatása oltványborokban sokkal nehezebb feladatnak bizonyult.

A tiszta hibrid-szőlőből készült fehér borok jellemzésére *Flanzy* és *Aubert* (3) is csak annyit állapítanak meg cikkükben, hogy e borok polifenol-, flavonol- és fenolsav-tartalma valószínűleg jelentősebb, mint az oltványboroké.

Régi kutatásaink alapján elindulva *Kevei* és *Spanyár* (4) – korszerű gáz-kromatográf birtokában – fehér direkttermő Noah-szőlőből készült borok és oltványborok objektív megkülönböztetésére, valamint az oltványboroknak direkttermő szőlő borával elegyítésének kimutatására réteg- és gáz-kromatográfiás módszereket dolgoztunk ki.

A felhasznált hibrid-borok Gyöngyös, Rózsaszentmárton, Terecske és Győr környékén termesztett Noah-szőlőből nagyüzemileg készültek. Oltványborként elsősorban a gyöngyösi „Mátra gyöngye” termelőszövetkezet megbízható borát használtuk, ezenkívül kereskedelmi forgalomban levő Debrői hárslevelű és Badacsonyi szürkebarát asztali borokkal is végeztünk kísérleteket.

Bormintáinkat mind a réteg-, mind a gáz-kromatográfiás vizsgálatokhoz hasonlóan dolgoztuk fel. Éter-pentán (2:1) oldószerkeverékkel több lépésben kivonatot készítettünk a borokból, a kivonatotok – víztelenítés után – vagy vákuumban pároltuk be a rétegekromatográfiás vizsgálatokhoz, vagy zárt készülékben töményítettük megfelelő térfogatra a gáz-kromatográfiás elválasztásokhoz.

* A Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet 1972. február 25-i tudományos kollokviumán elhangzott előadás (szerk.).

A rétegekromatográfiás szétválasztáshoz 0,25 mm vastag Polygram Sil G kész réteglapokat, ill. MN-Kieselgel N-HR/UV₂₅₄ adszorbenssel készített, ugyancsak 0,25 mm vastag rétegeket használtunk. Mindkét rétegfajtat 60 percig aktívtáltuk 105 °C-on.

Futtatókeverékként benzol-etilacetát-ecetsav (90:5:5) elegyét alkalmaztuk. A réteglapokat kétszer futtattuk kb. 30–30 percig.

A kész réteglapon szétválasztott kromatogramot 0,5 ml anizsaldehid + 50 ml jégecet + 1 ml cc kénsavból készített reagenssel bepermeteztük és utána 100–105 °C-os szárítószekrényben néhány percig melegítettük. Melegítésre lilás-rózsaszínű, lila, ill. kékes és barnás színezésű foltok tűnnek elő.

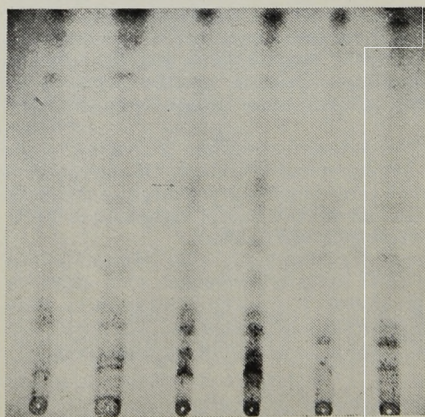
A fluoreszkáló indikátort tartalmazó rétegen is az előbbi futtatókeverékben kromatografáltunk. A megszáritott lemezek értékelését 254 nm hullámhosszú analitikai UV-lámpa alatt végeztük. A rétegen ennél az eljárásnál zöldeskék alapon világosabb és sötétebb kék színű foltokat láthatunk.

Gázkromatográfiás szétválasztásra a borkivonatokat 5 ml-re töményítettük. 10 µl-t adagoltunk a 10% Ucon HB 2000 jelzésű (polipropilenglikol) állófázist tartalmazó Celite töltetű spirál oszlopra. 60–170 °C hőmérséklet-határok között kromatografáltunk Perkin–Elmer 900-as típusú, kettős lángionizációs detektort tartalmazó gázkromatográf készülékben.

A kromatogramokat ún. belső standard alkalmazásával értékeltük ki és vagy rajzban, vagy ún. vonaldiagramban ábrázoltuk.

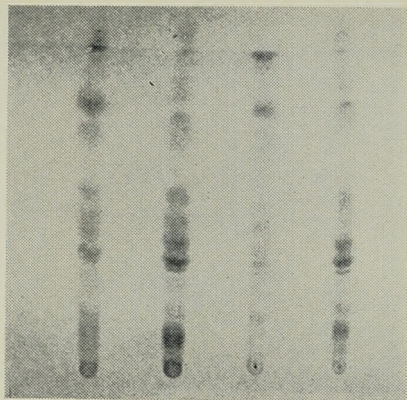
Az alkalmazott módszerek rövid ismertetése után beszámolok a fehér oltvány, és a fehér hibrid Noah-borok megkülönböztetésében elért eredményekről:

Az 1. ábrán bemutatott kromatogram egy gyöngyösi oltványbor (1. és 2. startpont), egy gyöngyösi Noah-bor (3. és 4. startpont) és egy győri ugyancsak Noah-bor (5. és 6. startpont) kivonatát mutatja kromatografálás és szinelőhívás után. Mindhárom mintából kétféle mennyiséget vittünk a kész Polygram Sil G rétegre (0,04 és 0,06 ml-t az oltványorból és 0,02 ml, ill. 0,04 ml-t a Noah-borokból), hogy a jellegzetes komponensek minél jobban kimutathatók legyenek. Mindhárom bormintában számos színes foltot láthatunk, de a két Noah-borban olyan lilás-rózsaszín nagy folt található a kromatogram közepe táján, amely foltoknak megfelelő helyen az oltványborban csak igen halvány kékes-lila foltot találunk.



1. ábra. Gyöngyösi oltványbor, gyöngyösi Noah- és győri Noah-bor kivonatának rétegekromatogramja. Rétegananyag: Polygram Sil G. Futtatókeverék: benzol-etilacetát-ecetsav (90:5:5) Előhívás: 0,5 ml anizsaldehid + 50 ml jégecet + 1 ml cc kénsav elegye Melegítés: 100–105 °C-on néhány perc Az 1. és 2. startpontra 0,04 és 0,06 ml oltványbor, a 3. és 4. pontra 0,02 és 0,04 ml gyöngyösi Noah-bor és az 5. és 6. startpontra 0,02 és 0,04 ml győri Noah-bor kivonatát vittük fel

2. ábra. Gyöngyösi oltvány- és Noah-bor kivonatának rétegekromatogramja UV₂₅₄-fényben Rétegananyag: MN-Kieselgel N-HR/UV₂₅₄ Futtató keverék: benzol-etilacetát-ecetsav (90:5:5) Az 1. és 3. startpontra 0,06 és 0,04 ml gyöngyösi oltványbor, a 2. és 4. startpontra pedig 0,06 és 0,04 ml gyöngyösi Noah-bor kivonatát vittük fel



A vizsgált hibrid borok mindegyikében ki tudtuk mutatni e jellegzetes alkatrész-foltokat.

Számottevő különbségeket mutat az oltvány- és Noah-bor kivonatának fluoreszkáló indikátort tartalmazó rétegen szétválasztott kromatogramja is. Ezt mutatjuk be a 2. ábrán.

Ezen a kromatogramon egy oltványbor (1. és 3. startpont) és egy Noah-borminta (2. és 4. startpont) 0,06 és 0,04 ml-nyi mennyiségeit kromatografáltunk és értékeltünk ki UV-fényben 254 nm-nél. A hibrid Noah-borok kivonata többsötét kékes-színű foltot mutatott UV-fényben, mint az oltványbor kivonata.

A gázkromatográfias szétválasztással nyert kromatogramok is jelentős különbségeket mutattak az oltvány- és a Noah-bor kivonata között.

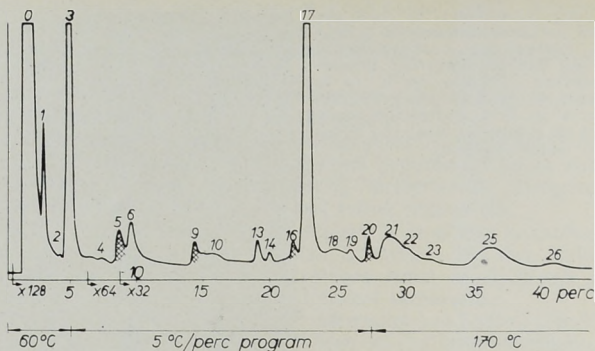
Egy tiszta oltványbor és egy tiszta hibrid Noah-bor kivonatának az elmondott körülmények közötti kromatografálásával kaptuk a 3a. és 3b. ábrán bemutatott két kromatogram-rajzot.

Az oltványbor kivonata egyrészt szegényebb aromacsúcsokban, mint a hibrid bor kivonata, mert az azonos retenció idejű csúcsok többsége (pl. 3., 5., 6., 16., 17. stb.) is csak kisebb mennyiségben található meg benne, mint a Noah-borban. Másrészt a direkttermő Noah-bor kivonatában van egy jellegzetes aromacsúcs – a 20. számú –, mely a bemutatott oltványborból teljesen hiányzik. Ezt az aromakomponst egyik vizsgált oltványbor-mintánkban sem tudtuk kimutatni, de kisebb-nagyobb mennyiségben mind a négy Noah-borban megtaláltuk.

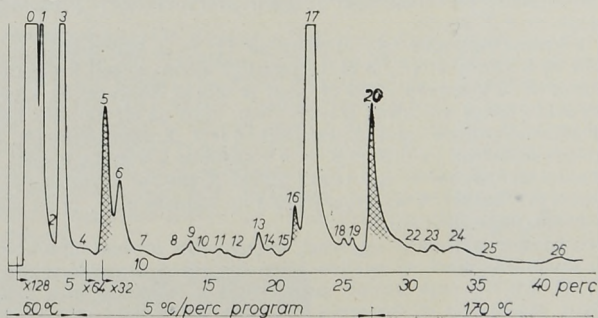
A borkivonatok rétegekromatográfias eljárással szétválasztott alkatrészei közül a Noah-borokra jellemző komponensek egyikét – az anizsaldehides színelőhívásnál sötét lilás-rózsaszínűnek mutató komponst – preparatív (csikban felvitt) rétegekromatográfias eljárással a többi alkatrésztől szétválasztottuk és a réteg anyagából éterrel kioldottuk. Az így kapott oldat gázkromatográfias vizsgálatánál ez az alkatrész a Noah-borok kivonatának kromatogram-rajzán (3b. ábra) megjelölt 20. aromacsúccsal – a retenció idők egyezése alapján – azonosnak bizonyult.

Oltványborokból hasonló eljárással nem sikerült azonos alkatrészt kimutatni.

Az oltvány- és direkttermő Noah-borok oldószeres kivonatában megállapított különbségek jól felismerhetővé teszik az oltványborba kevert Noah-bor jelenlétét. A következő ábrákon tiszta gyöngyösi oltványbor, majd 10%, 20%,



3a. ábra. Gyöngyösi oltványbor vízzel mosott kivonatának kromatogram-rajza
 Aromasűrítvény: 5 ml, mintamennyiség: 10 μ l.
 Oszlop: 10% Ucon 50 HB 2000 Celiten
 Érzékenység: R = 10, A = 128, 64, ill. 32.
 Kromatografálás: 5 percig 60 °C, program: 5°/perc 170 °C-ig, tartás: 170 °C-on 25–30 perc.
 0 = oldószer, 1–26 = az egyes aromacsúcsok. A vonalkázott komponens-csúcsok a Noah-bor adagolásával változást szenvednek. A nyíl irányában itt nem találunk aromacsúcsot

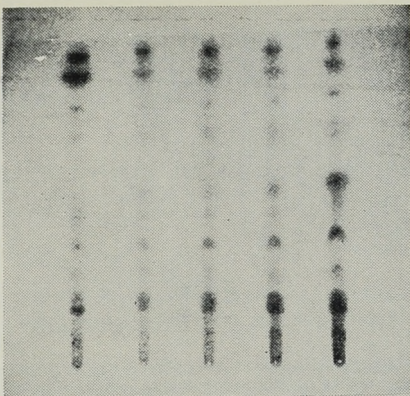


3b. ábra. Gyöngyösi Noah-bor vízzel mosott kivonatának kromatogram-rajza.
 Kísérleti körülmények a 3/a. ábra szerint

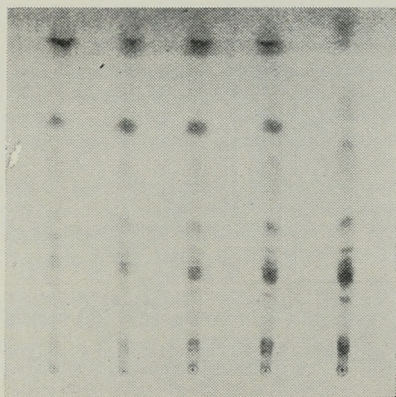
40% Noah-bort tartalmazó oltványbor, és végül tiszta Noah-bor kivonatának rétegekromatogramjait mutatjuk be. A 4. ábrán a színes kromatogram, az 5. ábrán a fluoreszkáló indikátort tartalmazó rétegen előhívott kromatogram UV-fényben készített felvétele látható. Mint az ábrák is bizonyítják, 10% fehér Noah-bor jelenlété a rétegekromatográfiai eljárásokkal már kimutatható.

Ugyanez a helyzet a borelegyek gázkromatográfiai vizsgálatánál is. Itt is kimutatható már a 10%-os Noah-bortartalom a gyöngyösi oltványborban. A 3a. és b. ábrákon már ismertettem a tiszta oltványbor és a tiszta Noah-bor gázkromatográfiai szétválasztással kapott kromatogramjait. A 6. ábrán 10%, a 7. ábrán 20% és a 8. ábrán 40% Noah-bort tartalmazó oltványbor kivonatának hasonló rajzait mutatjuk be. A kromatogram-csúcsok közül a vonalkázottakat azokat a komponenseket jelentik, amelyek megjelenése (pl. a 20. csúcs), ill. mennyiségi növekedése (pl. 5., 9. és 16. csúcs) a direkttermő Noah-borra jellemző.

4. ábra. Tiszta gyöngyösi oltványbor, valamint 10%, 20%, 40% Noah-bort tartalmazó oltványbor és tiszta Noah-bor kivonatának rétegekromatogramja Kísérleti körülmények az 1. ábra szerint



5. ábra. Tiszta gyöngyösi oltványbor, valamint 10%, 20%, 40% Noah-bort tartalmazó oltványbor és tiszta Noah-bor kivonatának rétegekromatogramja UV₂₅₄-fényben. Kísérleti körülmények a 2. ábra szerint



Eddigi munkánk eredményeit a következőkben foglalhatjuk össze:

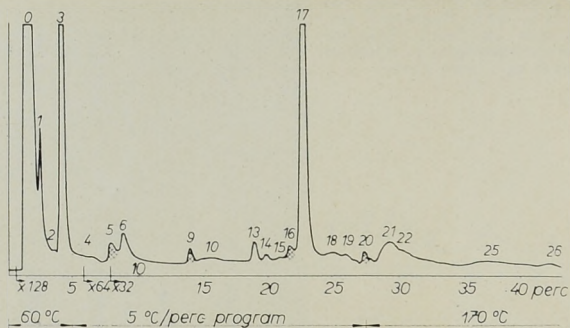
1. Fehér oltvány- és direkttermő Noah-borok gyors megkülönböztetése a kivonatok fluoreszkáló indikátort tartalmazó rétegen való kromatografálásával és UV-fényben kiértékelésével lehetséges.

2. A borkivonatok reagenssel előhívott rétegekromatogramjai között, a leírt körülmények betartásával, az előbbinél szembetűnőbb különbségek állapíthatók meg.

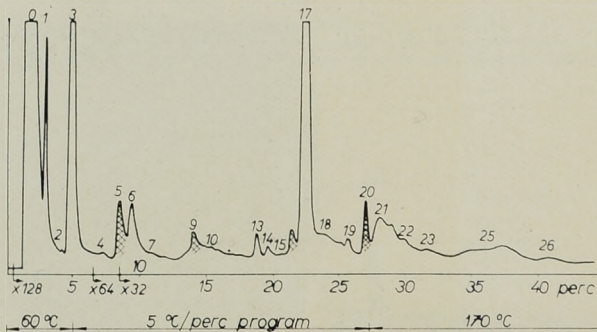
3. Gáz-kromatográfias eljárással is jelentős eltérések vannak a vizsgált oltvány- és hibrid-borok kromatogramjai között.

4. A Noah-borokra jellemzőnek talált egyik aromakomponenst (20. aromacsúcs a 3b. ábrán) azonosítani tudtuk e borok kivonatának színes rétegekromatogramjain kimutatott lilás rózsaszínű foltot adó alkatrészével.

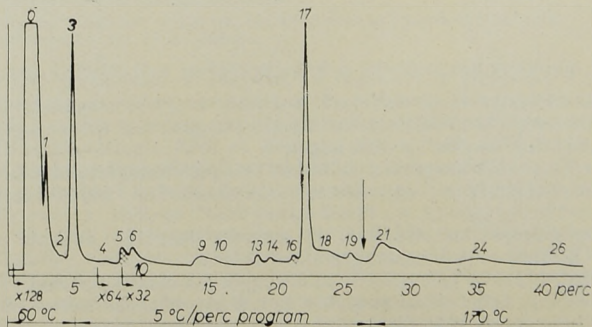
5. Az eljárások segítségével 10% Noah-bor-tartalom a fehér oltványborban már kimutatható.



6. ábra. 10% Noah-bort tartalmazó gyöngyösi oltványbor kivonatának kromatogram-rajza. Kísérleti körülmények a 3/a. ábra szerint. A 20. aromacsúcs megjelenik



7. ábra. 20% Noah-bort tartalmazó gyöngyösi oltványbor kivonatának kromatogram-rajza. Kísérleti körülmények a 3/a. ábra szerint. A 20. aromacsúcs megnagyobbodott



8. ábra. 40% Noah-bort tartalmazó gyöngyösi oltványbor kivonatának kromatogram-rajza. Kísérleti körülmények a 3/a. ábra szerint. A 20. aromacsúcs jelentős nagyságú

- (1) *Rrbereau-Gayon, P. és Haimovici, F.*: Comm. a la Société des Experts-Chimister de France, Paris, 1963.
 (2) *Sudraud, P.*: Feuilles Verts de l'0. I. V. 234-3/4. 1-4. 1967.
 (3) *Flanzy, M. és Aubert, S.*: Ann. Technol. agric. 18 (1), 17, 1969.
 (4) *Kevei, E. és Spanyol, P.*: Ind. Agric. et Alim. 82, 1157, 1965.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИН ИЗГОТОВЛЕННЫХ ИЗ БЕЛЫХ ПРЯМОПЛОДНЫХ ВИНОГРАДОВ, ГАЗОВЫМ И СЛОИСТЫМ ХРОМАТОГРАММОМ

Я. Кевей

Автор разработал два метода слоистой хроматографии и один метод газохроматографии для объективного выявления экстракта вин изготовленных из прямоплодного винограда „Ноах”.

На основании слоисто-хроматографического метода на слое содержащем флюоресцирующий индикатор Мп-Кизельгеля N-HR/UV₂₅₄ селективные экстракты вин двараза подвергли перегонке в смеси бензол-этилацетат-уксусной кислоты (90 : 5 : 5), на хроматограмме- под УФ лампы (при 254 нм) видны пятна, которые у вина „Ноах” по числу отклоняются от вин полученных из посадочного винограда.

Второй метод слоистой хроматографии на готовом слое Polygram Sil G после подобной селективной наводки, после опрыскивания анисовым альдегидом и сернистой кислотой и после нагревания, проявлением цветных пятен различает экстракт белых вин „Ноах” и экстракт вин полученных из посадочного винограда.

Этим способом в винах прямоплодного винограда наблюдали одно или два фиолетовые пятна с характерным значением R_F, которые пятна не имеются в посадочных виноградах. Разработанным газо-хроматографическим методом также можно плочить хорошо различаемый аромаграмм из экстрактов вин прямоплодного винограда.

Один характерный пик хроматограммы экстракта вина „Ноах” (20 арома пика на рис. 3/б) идентифицировали с фиолетовым пятном обнаруженного на цветном слоистом хроматограмме, которое характерно только на прямоплодные винограды. При помощи этих трёх методов в белых посадочных винах возможно обнаружить уже 10% содержания вина „Ноах”.

IDENTIFIZIERUNG AUS DIREKTTRAGENDEN WEISSEN WEINTRAUBEN BEREITETER WEINE MIT GAS- UND DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

J. Kevei

Verfasserin arbeitete zum objektiven Nachweis des Lösungsmittel-Extraktes von weissen direkttragenden Noah-Weintrauben bereiteten Weinen zweierlei dünn-schichtchromatographische und eine gaschromatographische Methode aus.

Nach der einen dünn-schichtchromatographischen Methode werden die Weinextrakte auf einer - einen fluoreszierenden Indicator enthaltenden - MN-Kieselgel N-HR/UV₂₅₄ Schicht zweimal in einem Gemisch des Laufmittels Benzol-Äthylacetat-Essigsäure (90:5:5) behandelt; im Chromatogramm - unter der UV-Lampe (bei 254 nm) erscheinen dann beim Noah-Wein charakteristische farbige Flecke in von Impf-Wein abweichenden Anzahl.

Bei dem anderen dünn-schichtchromatographischen Verfahren wird eine fertige Polygram Sil G Schicht verwendet; nach einer dem obigen Verfahren ähnlicher Entwicklung werden farbige Flecke vermittels Besprühen mit Anisaldehyd + Schwefelsäure und anschließendem Erwärmen sichtbar gemacht und dadurch die weissen Noah-Weine und Impf-Weine voneinander unterschieden. Mit dieser Methode erhält man ein oder zwei solche lilafarbige Flecke mit charakteristischem R_f Wert in dem Wein direkttragender Trauben, welche in Impf-Weinen fehlen.

Vermittels der ausgearbeiteten gaschromatographischen Methode kann man auch gut unterscheidbare Aromagramme aus Extrakten direkttragender und Impfweine erhalten.

Eine charakteristische Chromatogrammspitze im Extrakt des Noah-Weines (Abbildung 3/b, Aromaspitze 20.) war mit dem lilafarbenen Fleck im – mit Anisaldehyd entwickelten – farbigen Dünn-schichtchromatogramm der direkttragenden Weine identifizierbar, welcher ausschliesslich für direkttragende Weine charakteristisch ist.

Mit Hilfe der drei Methoden kann im weissen Impfwein 10% Noah-Wein nachgewiesen werden.

IDENTIFICATION OF WINES PRODUCED FROM WHITE AMERICAN TYPE (NOAH) GRAPES, WITH THE USE OF GAS CHROMATOGRAPHY AND THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

J. Kevei

For the objective detection of the extracts obtained with solvents from wines produced from white American type (Noah) grapes two methods of thin layer chromatography and one method of gas chromatography were developed. According to one of the thin layer chromatographic methods the wine extracts are allowed to run repeatedly in a 90:5:5 mixture of benzene: ethyl acetate: acetic acid on an MN-Kieselgel N-HR/UV₂₅₄ layer containing a fluorescent indicator. In the presence of Noah wine under an ultraviolet lamp (at 254 nm) spots of characteristic colour appear in the chromatogram in a number differing from that appearing with European type wines. According to the other thin layer chromatographic method running in a solvent similar to the mentioned one is carried out on a ready-made Polygram Sil G layer then the extracts of white Noah and European type wines distinguished by spraying the layer with anisaldehyde plus concentrated sulphuric acid and developing coloured spots by heating. By this procedure one or two violet spots of characteristic R_f value appear in extracts of Noah wine that are absent in the chromatograms of wines free of white Noah wine. The developed gas chromatographic method is suitable for distinguishing white Noah wines from European type wines by means of the aromagrams obtained with their extracts. One of the characteristic chromatographic peaks of the extract of white Noah wines (peak No. 20 in Fig. 3/b) was found to be identical with that violet spot developed with anisaldehyde in the coloured layer chromatogram of Noah wines which spot is characteristic just of these wines. On applying any of the described three methods, a 10 per cent content of Noah wine in white type European wines can be detected.