



RESOLUTION OENO 6/2006

BESTIMMUNG VON SORBINSÄURE, BENZOESÄURE UND SALICYLSÄURE IM WEIN MITTELS HPLC

DIE GENERALVERSAMMLUNG,

unter Bezugnahme auf Artikel 2, Paragraf 2 IV des Gründungsübereinkommens vom 3. April 2001 der internationalen Organisation für Rebe und Wein und

auf Vorschlag der Unterkommission für Analyse- und Bewertungsmethoden für Wein,

BESCHLIESST, den Punkt 2.2.2. A der Methode AS- 4-02 RECANT der Sammlung internationaler Analysemethoden für Wein und Most durch den Bezug auf folgende Methode des Typs IV zu ersetzen.

BESCHLIESST, den Anhang A des Sammelwerks der internationalen Analysemethoden für Wein und Most durch folgende Typ-IV-Methode zu ergänzen:

TITEL	TYP DER METHODE
Bestimmung von Sorbinsäure, Benzoessäure und Salicylsäure im Wein mittels HPLC	IV

1. Einleitung

Sorbinsäure und ihr Kaliumsalz sind Konservierungsstoffe, die in der Önologie angewendet werden können. Bestimmte Länder tolerieren ihre Präsenz in Weinen allerdings nicht, selbst dann nicht, wenn sie nur in Spuren vorhanden sind. Die Begründung dafür liegt im Geruch nach Geranien, der sich beim Abbau von Sorbinsäure durch die Milchsäurebakterien entwickelt. Benzoessäure und Salicylsäure sind in Weinen grundsätzlich verboten, werden allerdings in anderen Getränken verwendet.

2. Geltungsbereich

Alle Weine und Traubenmoste, insbesondere jene, die nur Spuren an Sorbinsäure, Benzoessäure oder Salicylsäure enthalten können (ab Konzentrationen von 1 mg/l).

3. Prinzip

Die Konservierungsstoffe werden mittels HPLC nach direkter Injektion der Proben, isokratischer Trennung auf einer Umkehrphase und UV-Detektion bei 235 nm bestimmt.

*Beglaubigte Ausführung
Paris, den 28. Juli 2006
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Federico CASTELLUCCI



4. Reagentien

- 4.1 Mikrofiltriertes reines Wasser (z. B. spez. Widerstand höher als 18,2 M Ω)
- 4.2 Reines Tetrahydrofuran
- 4.3 Reines Methanol
- 4.4 0,1 M Salzsäure (durch Verdünnung hergestellt)
- 4.5 Wasser mit pH-Wert 2; 650 ml Wasser (4.1) durch tropfenweises Zugeben von 0,1 M Salzsäure (4.4) - auf einen pH-Wert von 2 bringen (5.5) (mit pH-Messgerät überprüfen).
- 4.6 Mobile Phase: 650 ml Wasser mit einem pH-Wert von 2 (4.5), 280 ml Methanol (4.3) und 7 ml Tetrahydrofuran (4.2) mischen.
- Anmerkung:** es können auch andere Elutionsmittel verwendet werden, z.B.: 80% Ammoniumacetatlösung 0,005 M (0,38 g/l), die mit reiner Essigsäure auf einen pH-Wert von 4 gebracht wird + 20% Acetonitril.
- 4.7 Reine Sorbinsäure
- 4.8 Reine Benzoesäure
- 4.9 Reine Salicylsäure
- 4.10 Reiner Alkohol
- 4.11 50 %ige Wasser-/Alkohollösung. 500 ml reinen Alkohol (4.10) in einen 1 l-Messkolben geben und mit destilliertem Wasser (4.1) auffüllen.
- 4.12 Stammlösung der Säuren mit 500 mg/l: 50 mg Sorbinsäure (4.7), Benzoesäure (4.8) und Salicylsäure (4.9) in 100 ml 50 %iger Wasser-/Alkohollösung (4.11) auflösen.
- 4.13 Aus Sorbinsäure, Benzoesäure, Salicylsäure hervorgehende Lösung: Die Stammlösung (4.12) in einer Wasser-/Alkohollösung (4.11) so verdünnen, dass man die gewünschten Endkonzentrationen erreicht. Zum Beispiel für eine Lösung mit
 - 200 mg/l: 20 ml Stammlösung (4.12) in einen 50 ml-Messkolben geben und bis zur Marke mit 4.11. auffüllen.
 - 1 mg/l: 2 ml Stammlösung 4.12 in einen 50 ml-Messkolben geben und bis zum Marke mit 4.11 auffüllen.Lösungen mit dazwischen liegenden Konzentrationen können auf dieselbe Weise gemäß dem Kalibrierungsbedarf hergestellt werden.

5. Geräte

- 5.1 Laborgläser, insbesondere Pipetten und Messkolben
- 5.2 Ultraschallbad
- 5.3 Vakuumfiltriervorrichtung für große Mengen (1 l), deren Filtermembrane einen Porendurchmesser unter 1 μ m aufweisen (in der Regel 0,45 μ m)
- 5.4 Minifilter für Probe (1 bis 2 ml), dessen Filtermembrane einen Porendurchmesser unter 1 μ m aufweisen (in der Regel 0,45 μ m)
- 5.5 pH-Messgerät
- 5.6 HPLC-Anlage, isokratisch mit einer Injektionsvorrichtung für kleine Mengen, z. B. mit einem 10 oder 20 μ l-Probenventil.
- 5.7 UV-Detektor mit Durchflußküvette (z. B. 8 μ l bei 1 cm Schichtdicke)
- 5.8 HPLC-Säule Reversed-Phase (Partikelgröße: 5 μ m), mit Oktadecylgruppen (C18), l=20 cm I.D.= 4 mm
- 5.9 Datenerfassungssystem

*Beglaubigte Ausführung
Paris, den 28. Juli 2006
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Federico CASTELLUCCI



6. Vorbereiten der Proben und des Fließmittels

- 6.1 Die zu analysierenden Proben mit dem Minifilter (5.4) filtrieren.
- 6.2 Das Fließmittel (4.6) während 5 Minuten im Ultraschallbad 5.2 entgasen.
- 6.3 Das Lösungsmittel mit Hilfe der Vorrichtung 5.4 filtrieren.

7. Durchführung

- 7.1 Vorbereiten der Säule: Vor der Injektion die Säule mindestens 30 Minuten lang mit dem Lösungsmittel spülen.
- 7.2 Eine der Standardlösungen (4.13) injizieren, um die Empfindlichkeit und die richtige Auflösung der Peaks der zu analysierenden Substanzen sicherzustellen.
- 7.3 Die zu analysierende Probe injizieren, eventuell die Analyse einer identischen Probe durchführen, die mit den nachzuweisenden Säuren versetzt wurde (die Zugabe der eventuell bei der vorausgehenden Analyse festgestellten Menge anpassen, wenn 1 mg vorhanden, dann ebenfalls 1 mg hinzufügen...)
Die richtige Auflösung der Peaks der nachzuweisenden Säuren mit den Peaks des Weins sicherstellen (normalerweise sind in dieser Zone keine vorhanden)

8. Berechnung

Nach Markieren der Peaks der zu bestimmenden Säuren in der Probe die Fläche der Peaks mit denen der Säuren einer Standardlösung (4.13) mit bekannter Konzentration vergleichen.

Wenn z. B. s die Fläche des Peaks der zu bestimmenden Säure ist und S die Fläche der Lösung des Standards (4.13) mit der Konzentration C , ergibt sich für seine Konzentration x (mg/l):

$$X_{\text{in der Probe}} = C \times \frac{s}{S} \quad (\text{mg/l})$$

9. Verfahrenskennzahlen

	Sorbinsäure	Benzoessäure	Salicylsäure
Linearitätsbereich	0 à 200 mg/l	0 à 200 mg/l	0 à 200 mg/l
Richtigkeit (Wiederfindungsrate)	> 90 %	> 90 %	> 90 %
Wiederholbarkeit : r^*	2%	3%	8%
Reproduzierbarkeit : R^*	8%	9%	12%
Nachweisgrenze	3 mg/l	3 mg/l	3 mg/l
Quantifizierungsgrenze	5 mg/l	6 mg/l	7 mg/l
Messunsicherheit	11%	12%	13%

*Beglaubigte Ausführung
Paris, den 28. Juli 2006
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Federico CASTELLUCCI



LITERATUR

- Dosage de l'acide sorbique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. und SARRE Ch., *Feuillets Verts O.I.V.*, 654-681.
- Dosage de l'acide salicylique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. und SARRE Ch., *Feuillets Verts O.I.V.*, 655-682.
- Dosage de l'acide benzoïque, dans les sodas et autres produits alimentaires liquides, par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. und SARRE Ch. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 71, 761, 35-39.
- Application de la chromatographie liquide à l'analyse des vins et des moûts. 1979. SALAGOITY-AUGUSTE M.-H. Doktorat Universität Bordeaux 2.

*Beglaubigte Ausführung
Paris, den 28. Juli 2006
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Federico CASTELLUCCI