

Bestimmung von Kationen und biogenen Aminen mittels Ionenchromatographie

Kay Pfluger

Schenk S.A. 1180 Rolle



Schenk S.A. Rolle (Genfersee)

- ***Jahresabsatz in Flaschen*** : 22 000 000 Flaschen, davon 50 % Schweizer Weine, 40 % ausländische Weine und 10 % Traubensaft.
- ***Jahresabsatz nicht abgefüllter Produkte***: 7 Millionen Liter, davon 30 % Schweizer Weine, 20 % ausländische Weine, 50 % Traubensaft.
- ***Einkellerungsvermögen Rolle***: 17 Mill. Liter
Flaschenabfüllvermögen: 3 Anlagen für insgesamt 30 000 Flaschen/Stunde.
- ***Lager***: 16 000 Paletten.
- ***Beschäftigte***: 120 Personen.

Schenk S.A. Labor

- 3 Mitarbeiter
- LIMS auf Window NT 5 Basis
- ~ 17000 Proben / Jahr
- Weinbereitung 2003 = 9.3 Mill. Liter
- 160'000 Einzelparameter
- 30 Weinkeller
- 45 Vertragswinzer

Laboratorium Schenk S.A.

Fourier Transform Infrarot Spektrometer (Winescan)



Übersicht meines Vortrags

1. Aufgabenstellung
2. Parameter
3. Probenvorbereitung
4. Ablauf einer Messung
5. Kalibration
6. Abschätzung der Messunsicherheit
7. Erfahrungen

Aufgabenstellung

- Erarbeitung einer Analysenmethode zur routinemässigen Ermittlung des Histamingehalts sowie der gängigsten Kationen im Wein.
- Ziel ist eine einfache schnelle und preiswerte Methode mit geringer Probenvorbereitung und wenig Abfall.

Entwicklung

- 2003 Dionex publiziert einen Applikationsbericht über die Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen sowie biogener Amine mittels der neuen Dionex CS17 Säule.

- Herbst 2003 Kontaktaufnahme mit Dionex und mit Metrohm

- Winter 2003 – 2004

Dionex : Evaluierung der CS-17 Säule für eine Anwendung im Wein. Resultat: Die Bestimmung von 6 Kationen sowie 5 biogener Amine welche in einem Gradienten-Lauf (Methansulfonsäure) mittels supprimierter Leitfähigkeit detektiert werden ist möglich.

- Nachteil: Jede Probe muss über eine On-Guard Vorsäule (= PVPP) gereinigt werden.

Winter - Frühjahr 2004

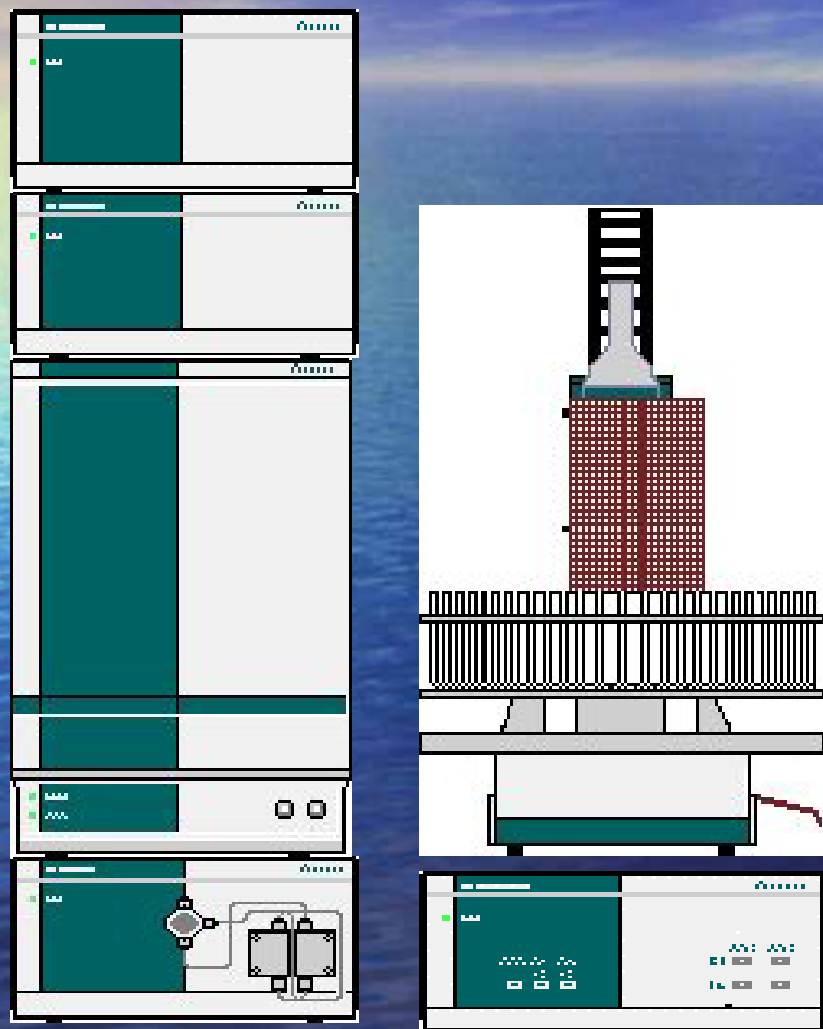
- Metrohm : Erarbeitung einer isokratischen Methode mit Messung der indirekten Leitfähigkeit Eluent (Salpetersäure / Aceton).

Resultat: Die Bestimmung von 4 Kationen sowie 3 biogener Amine in einem Lauf ist möglich. Die Probenvorbereitung ist einfach, Filtration und Verdünnung sind ausreichend.

Juni 2004

- Installation eines Kationensystems mit Probengeber welches über einen Detektor (Metrohm IC 819) für Nachweisgrenzen im Bereich von (<10 ppb) verfügt.

Kationensystem mit Probengeber



- Interface PC
- IC Detektor 819
- Separation Center
- IC Pumpe 818
- Probenwechsler 766
- Eluenten Entgaser 837

Kationensystem mit Probengeber



Kationensystem mit Probengeber



2. Bestimmbare Parameter / Reagentien

- Natrium
- Kalium
- Kalzium
- Magnesium
- Putrescin
- Cadaverin
- Histamin
- Mobile Phase 2.5 mmol Salpetersäure + 10 % Aceton
- Ultrareines Wasser >18.0 MΩ

Millipore Direct-Q5 18.2 M Ω .cm bei 25°C Endfilter 0.22 μ m



3. Probenvorbereitung 1

- Die trüben Proben werden während 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Wir verwenden eine Sigma Zentrifuge 4-15 welche 28 x 50 ml aufnehmen kann.



- Zentrifuge
Sigma 4-15
Kapazität
28 Proben x 50ml



4. Ablaufschema der Messung

Die Weinproben werden mit 2mmol Salpetersäure 1 : 5 verdünnt und auf einer Kationensäule aufgetrennt. Die Detektion erfolgt über die Leitfähigkeit. Ein Full Scale change nach zirka 14 Minuten ist nötig um die kleinen Mengen an biogenen Aminen messen zu können.

- Probenverdünnung mit 2mmol Salpetersäure



Trennbedingungen

- Trennsäule Metrosep C1
- Vorsäule Metrosep C Guard + RP Guard
- Fließgeschwindigkeit 1.0 ml / min
- Detektion Leitfähigkeit, Range: 1 mS/cm, Fullscale: 100 mS/cm, Temp. 20° C

5 Kalibration

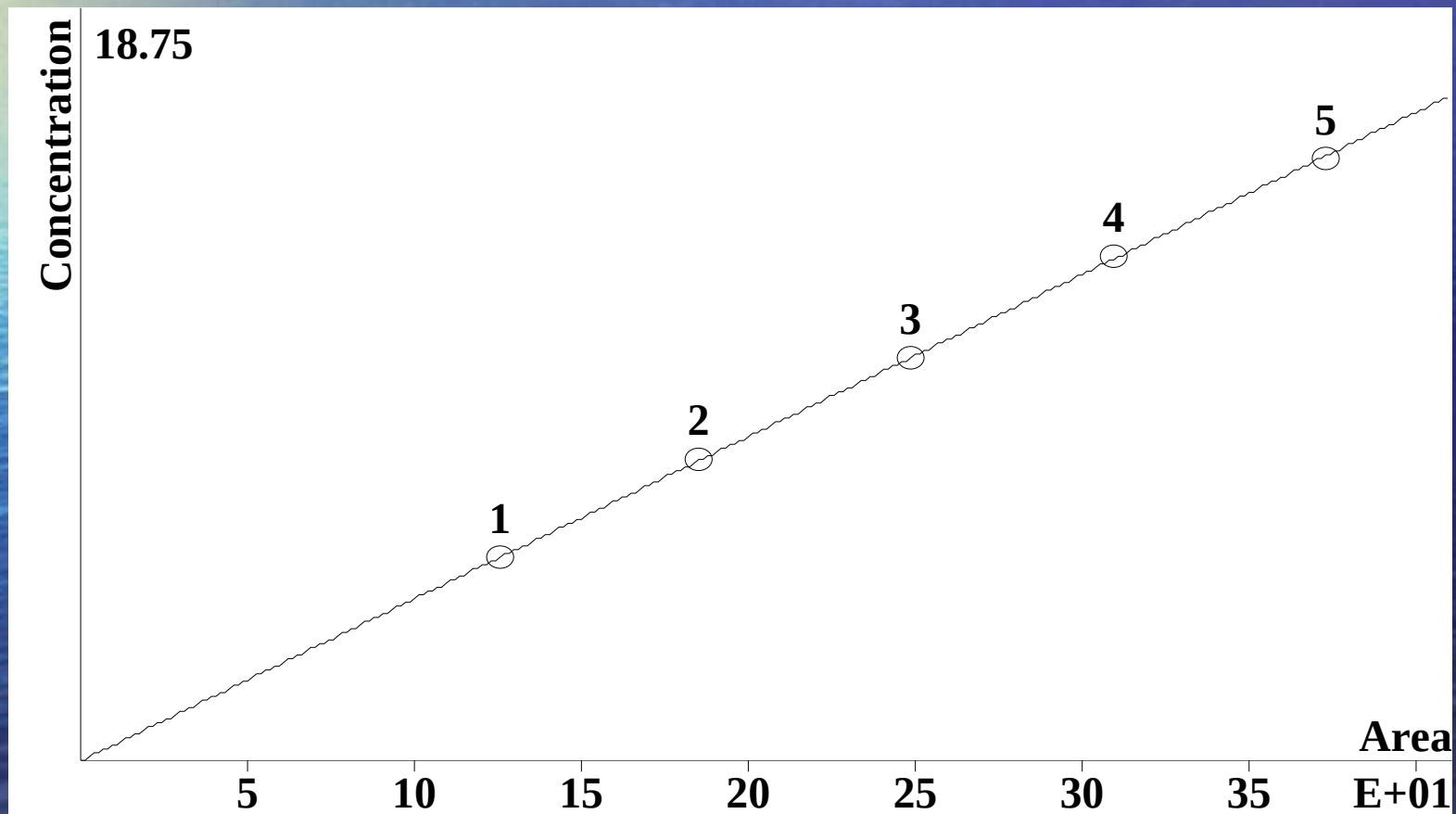
- Die Auswertung der Weinproben erfolgt automatisch über IC Net 2.3 Software mittels einem Externen Standard der vergleichbare Substanzmengen wie die verdünnte Probe aufweist. (Kationen = Peak Fläche, Amine = Peak Höhe)
- In Anbetracht der guten Linearität der Methode verzichten wir in der Routineanalytik auf eine 3 Punkt Eichung und kalibrieren mit einem Standard.

Messunsicherheit

- Natrium 5, 7.5, 10, 12.5, 15 ppm

 **Metrohm**

Correlation coefficient: 0.999961

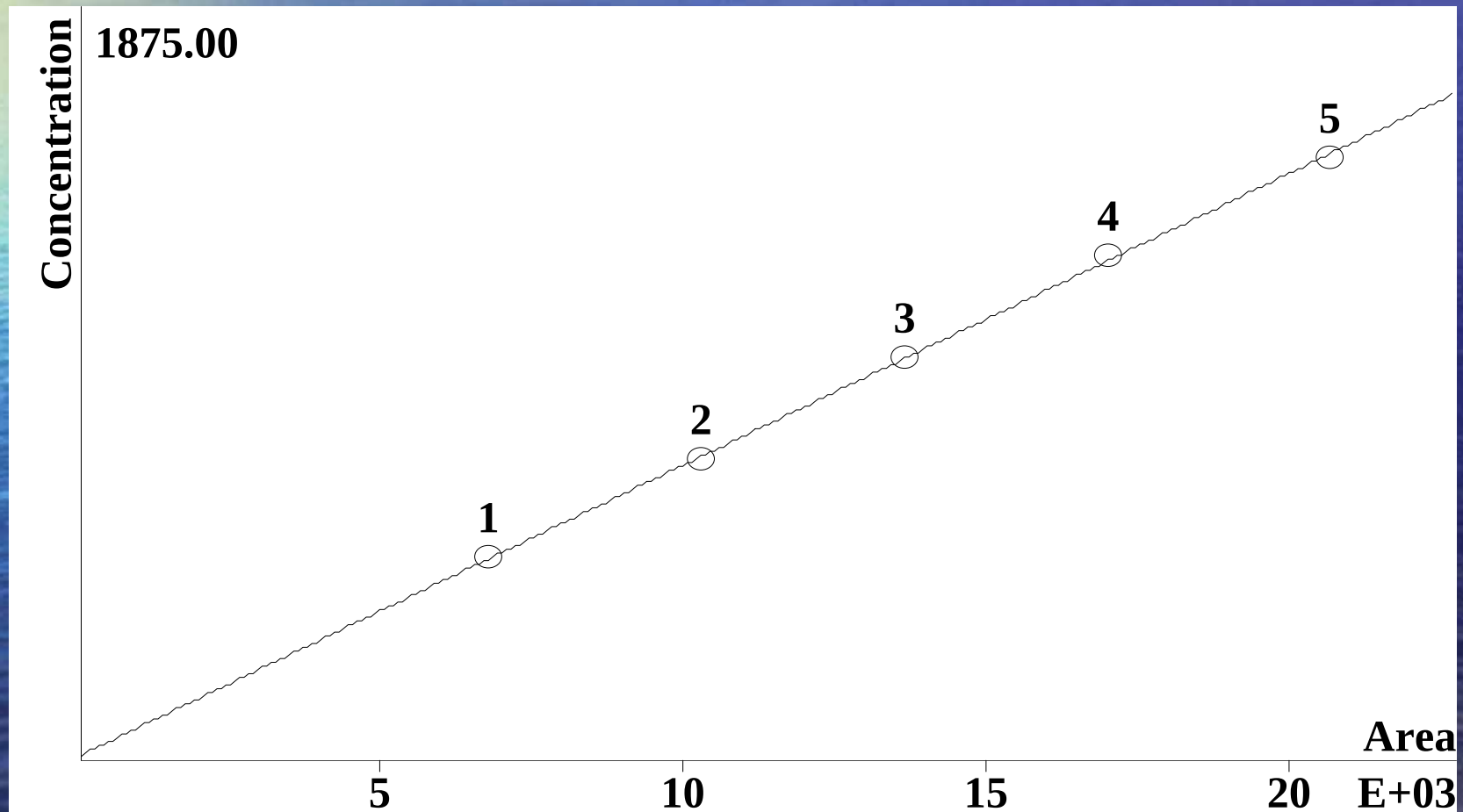


Messunsicherheit

- Kalium 500, 750, 1000, 1250, 1500 ppm



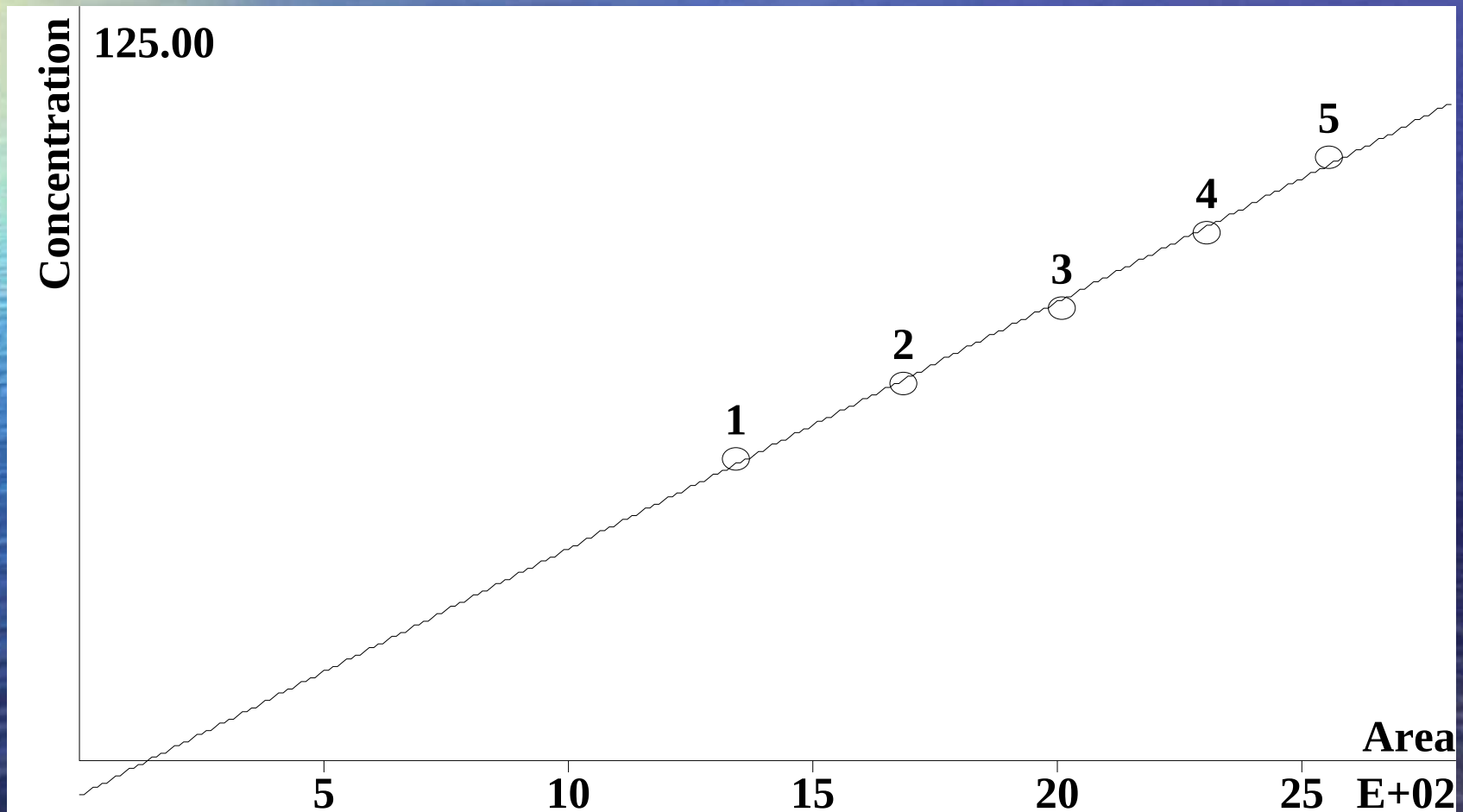
Correlation coefficient: 0.999913



Messunsicherheit

- Kalzium 50,62.5, 75, 87.5 100 ppm

Correlation coefficient: 0.998336

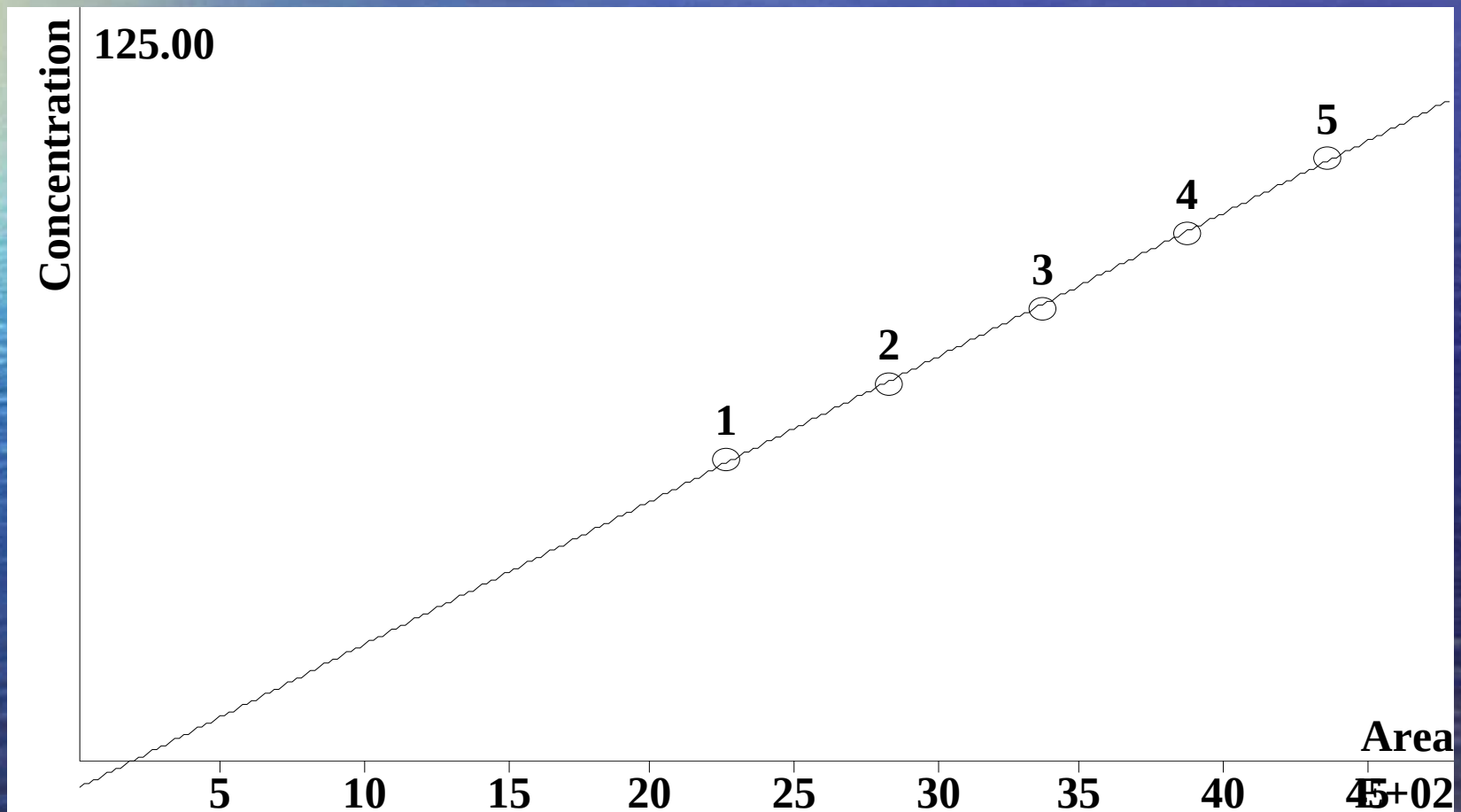


Messunsicherheit

- Magnesium 50,62.5, 75, 87.5, 100 ppm



Correlation coefficient: 0.999572

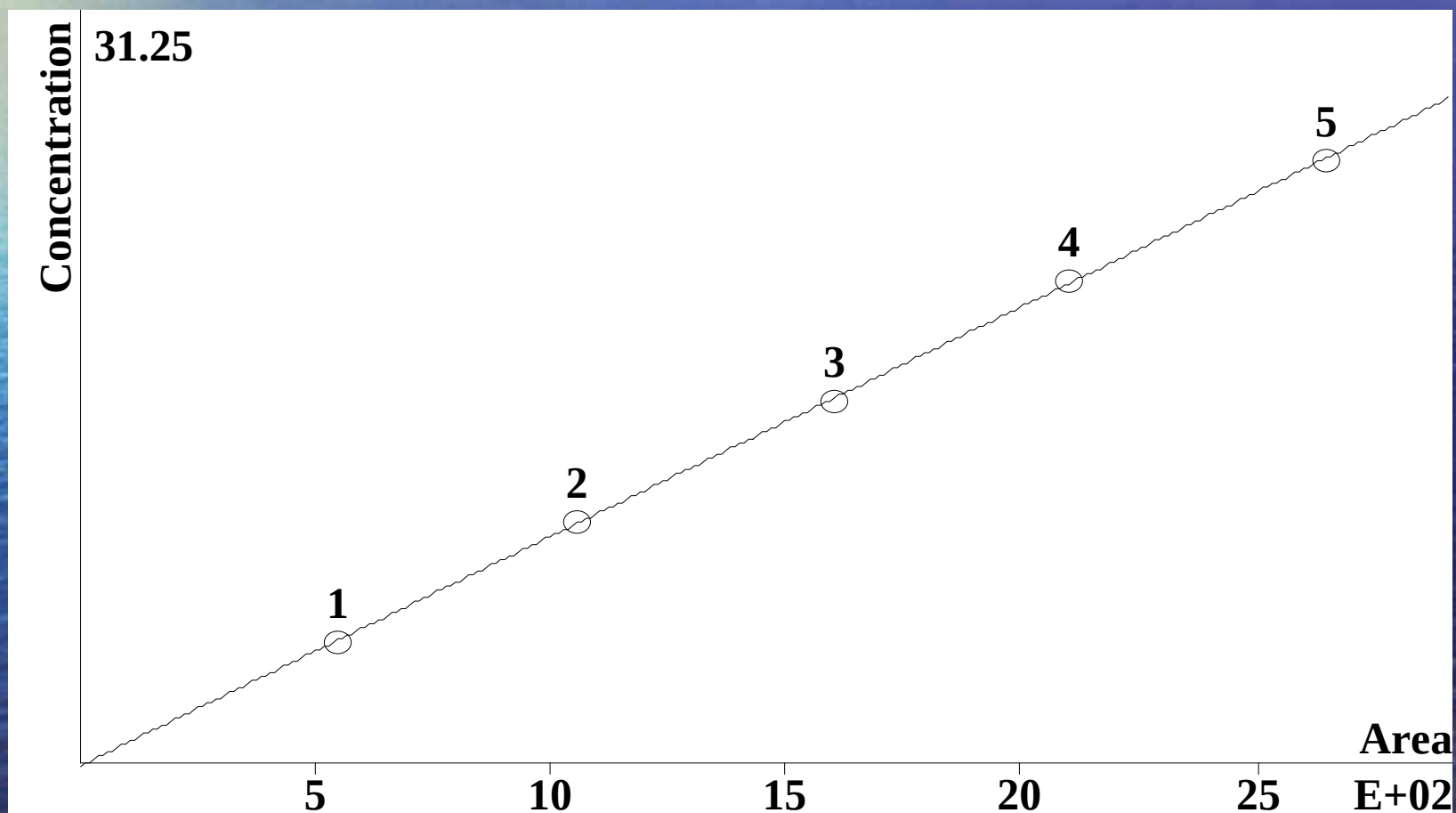


Messunsicherheit

- Putrescine 5, 10, 15, 20, 25 ppm

 **Metrohm**

Correlation coefficient: 0.999906

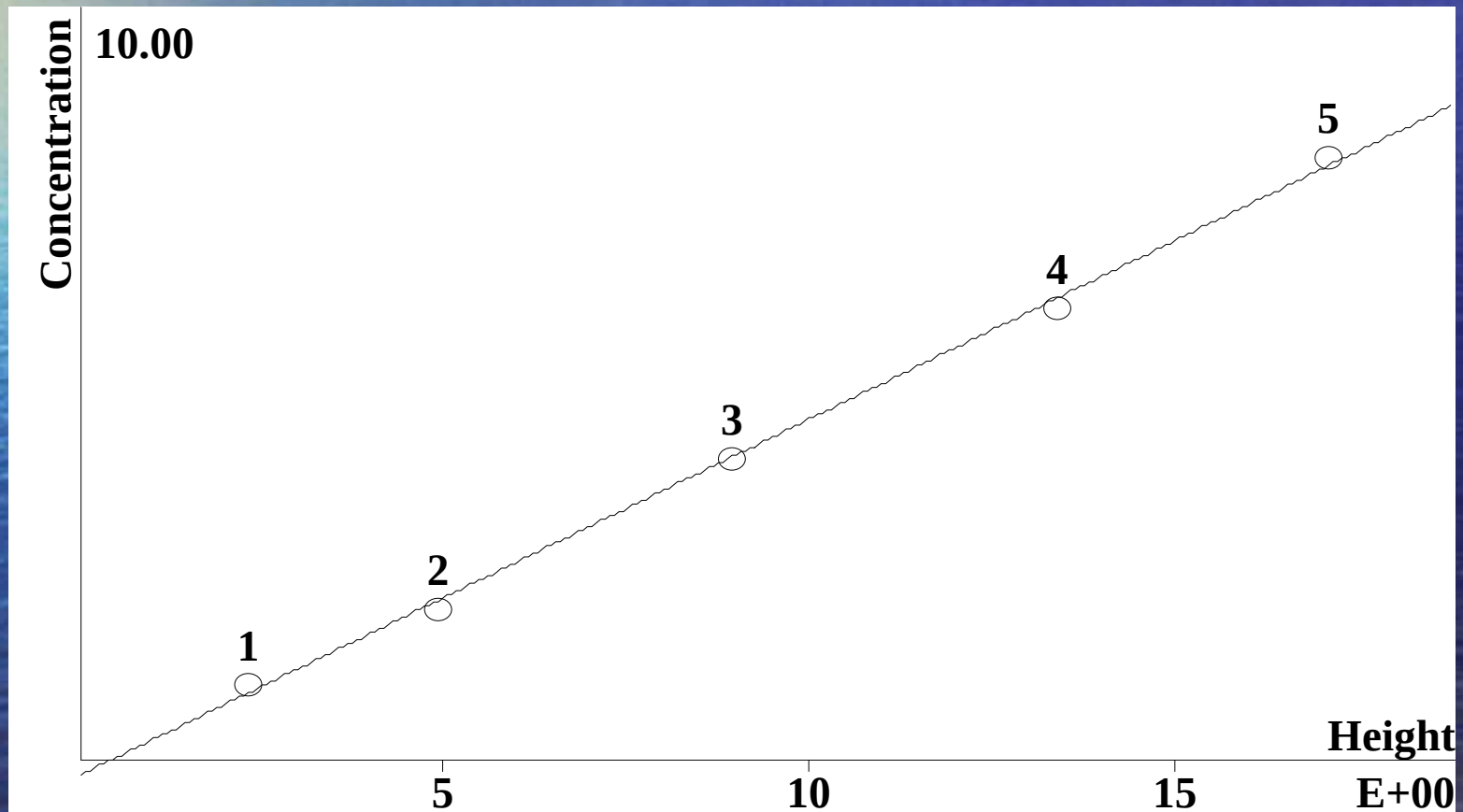


Messunsicherheit

- Cadaverine 1, 2, 4, 6, 8 ppm

Correlation coefficient: 0.999161

 **Metrohm**

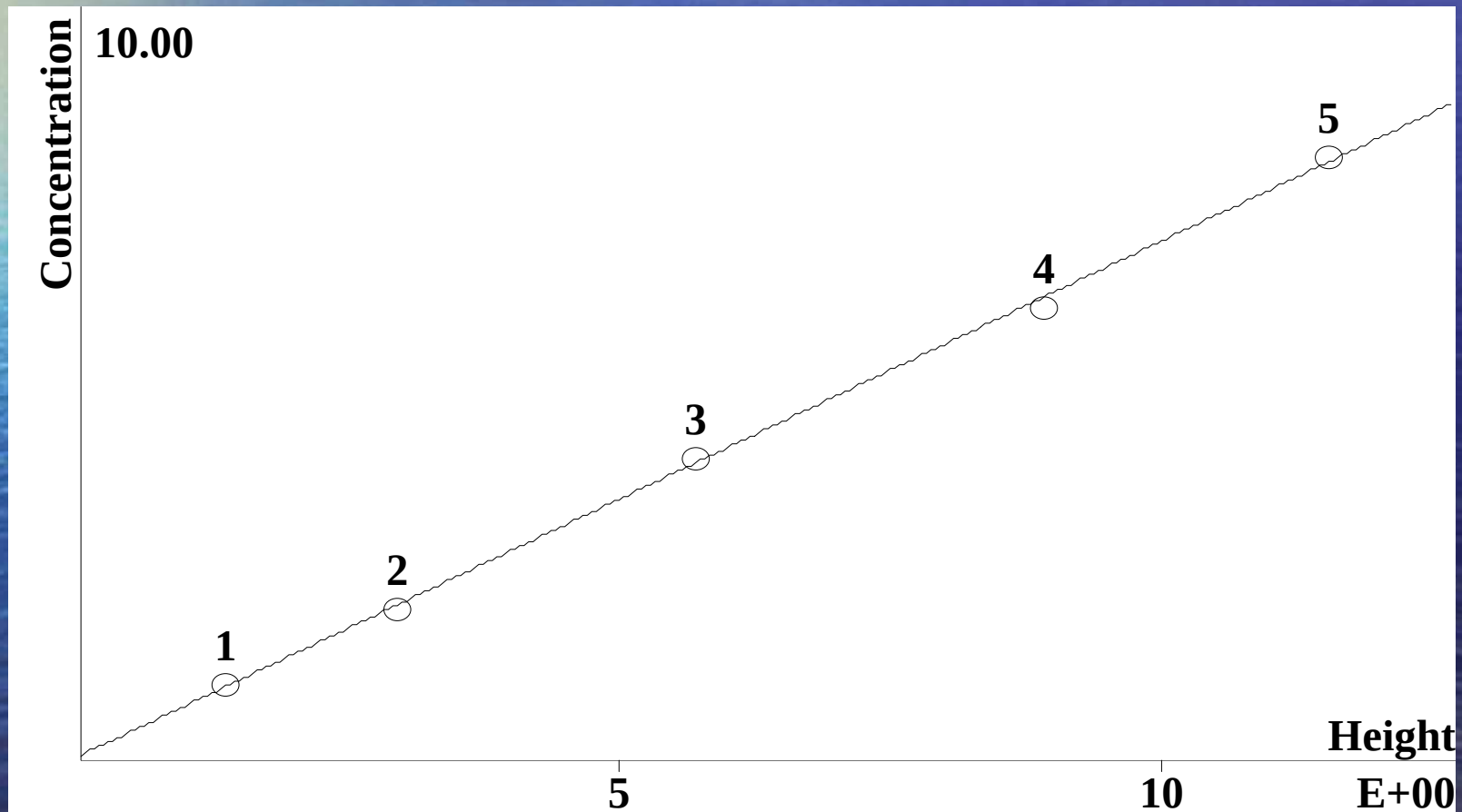


Messunsicherheit

- Histamine 1, 2, 4, 6, 8 ppm

Ω Metrohm

Correlation coefficient: 0.999582



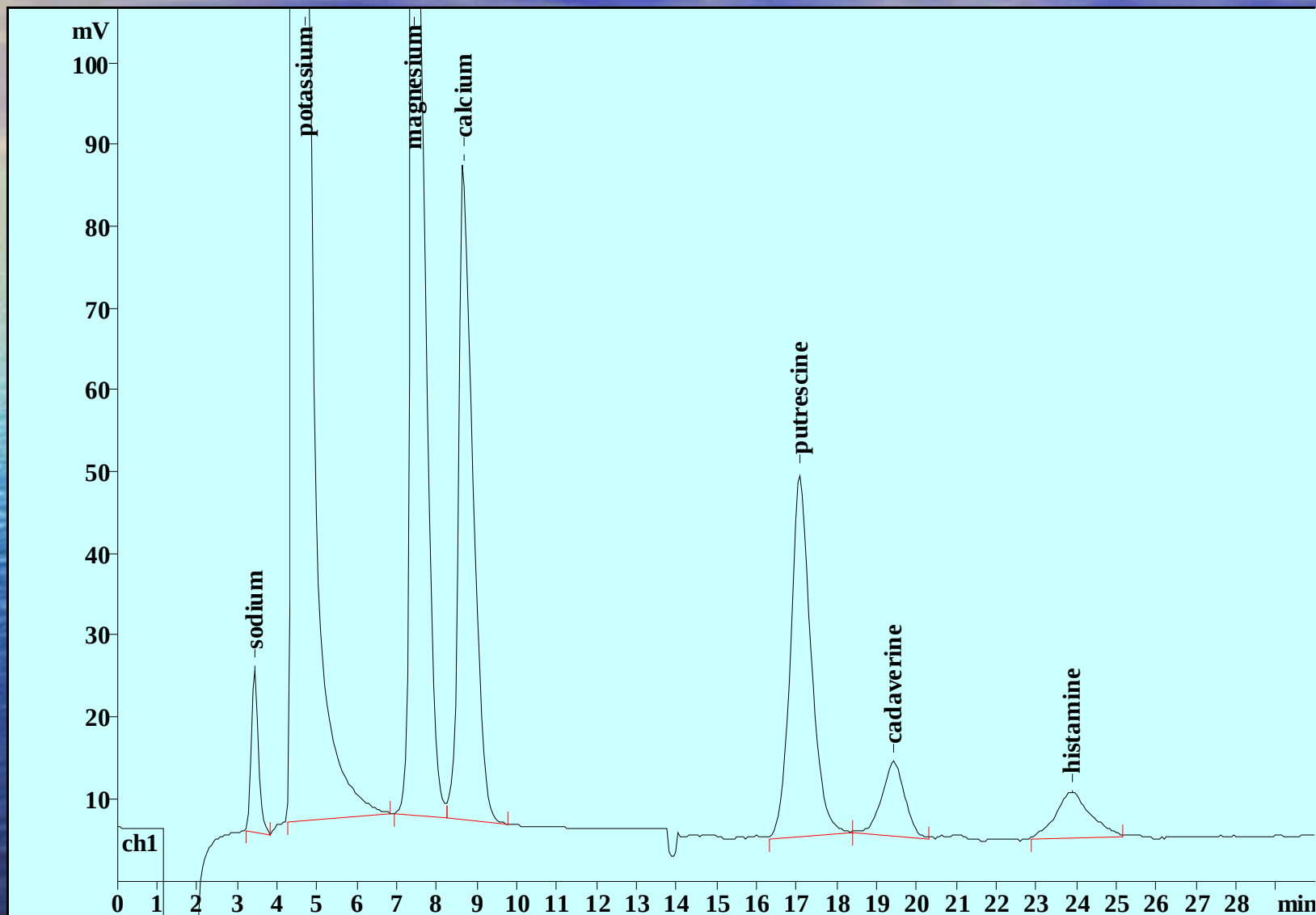
Kontrolle des Standards

Conc. [ppm]	sodium	potassium	magnesium	calcium	putrescine	cadaverine	histamine
1. o3171825.CHW	9.9291	1002.3	75.714	76.249	14.768	10.774	10.129
2. o3171859.CHW	9.9141	1002.5	75.866	76.322	14.772	10.606	10.229
3. o3171933.CHW	9.939	1002.9	75.843	76.411	14.792	10.801	10.106
4. o3172007.CHW	9.946	1002.9	75.81	76.328	14.886	10.675	10.239
5. o3172041.CHW	9.9964	1003.9	75.867	76.293	14.805	10.653	9.9544
6. o3172115.CHW	9.9064	1003.3	75.839	76.376	14.82	10.493	9.8508
7. o3172149.CHW	9.9722	1003.4	75.857	76.224	14.731	10.719	9.9218
8. o3172223.CHW	9.9592	1003.9	75.856	76.283	14.854	10.709	10.156
9. o3172256.CHW	9.9657	1003.6	75.903	76.242	14.938	10.673	9.9829
10. o3172330.CHW	9.9565	1004.4	75.923	76.307	14.913	10.647	10.019
Max	9.996	1004.400	75.923	76.411	14.938	10.801	10.239
Min	9.906	1002.300	75.714	76.224	14.731	10.493	9.851
Mean	9.948	1003.310	75.848	76.304	14.828	10.675	10.059
StdDev.	0.027	0.666	0.057	0.059	0.068	0.087	0.133
%RSD	0.28	0.07	0.07	0.08	0.46	0.81	1.32

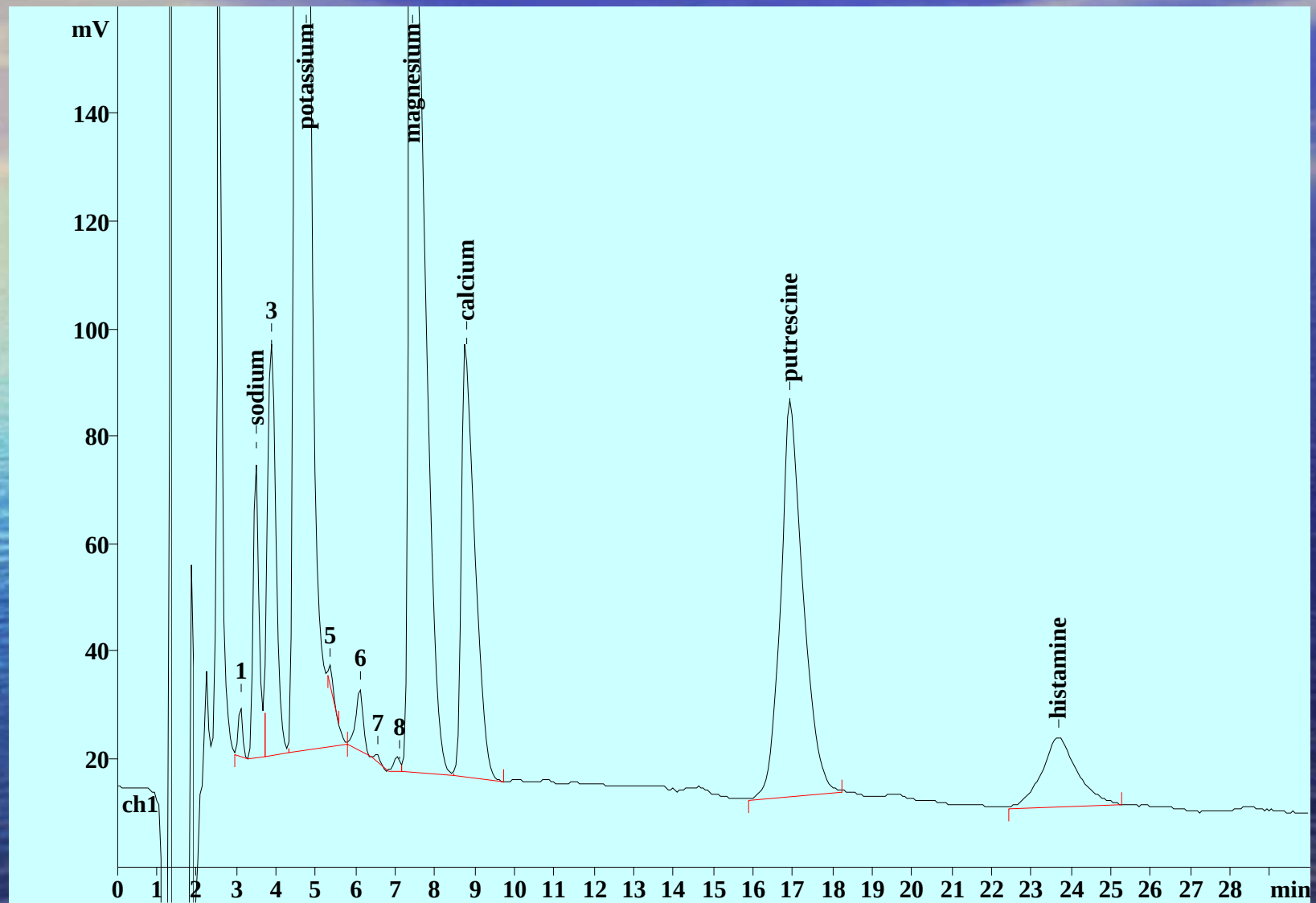
Wiederfindungsrate aufgestockter Proben

	concentration [ppm]						
	sodium	potassium	magnesium	calcium	putrescine	cadaverine	histamine
Mean Wine 2 (Castillo Perelada)	14.13	892	123.5	65.9	18.09	0.00	4.50
Wine 2 corrected for spiked sample	13.90	878	121.6	64.8	17.81	0.00	4.43
Theoretical spiking	5.00	0.00	0.00	0.00	5.00	3.00	3.00
Theoretical conc. for spiked sample	18.90	878	121.6	64.8	22.81	3.00	7.43
Mean Wine 2 spiked	19.03	878	121.5	64.8	22.58	3.28	7.30
Recovery % Wine 2 spiked	100.6	100.0	100.0	100.0	99.0	109.2	98.2
Mean Wine 3 (Marques del Puerto)	11.86	850	116.4	61.5	28.77	0.00	8.54
Wine 3 corrected for spiked sample	11.67	837	114.5	60.6	28.32	0.00	8.40
Theoretical spiking	5.00	0.00	0.00	0.00	5.00	3.00	3.00
Theoretical conc. for spiked sample	16.67	837	114.5	60.6	33.32	3.00	11.40
Mean Wine 3 spiked	17.04	836	114.1	60.5	33.51	2.88	11.02
Recovery % Wine 3 spiked	102.2	99.8	99.6	99.8	100.6	95.9	96.7
Mean Wine 4 (Conde de Siruela)	13.93	1077	104.3	59.9	10.83	0.00	4.63
Wine 4 corrected for spiked sample	13.71	1060	102.7	59.0	10.66	0.00	4.56
Theoretical spiking	5.00	0.00	0.00	0.00	5.00	3.00	3.00
Theoretical conc. for spiked sample	18.71	1060	102.7	59.0	15.66	3.00	7.56
Mean Wine 4 spiked	18.06	1060	102.6	58.8	15.56	3.08	7.42
Recovery % Wine 4 spiked	96.5	100.0	99.9	99.7	99.4	102.6	98.2
Mean Wine 7 (Siglo Rioja)	22.79	986	118.2	72.3	26.57	0.00	5.96
Wine 7 corrected for spiked sample	22.44	970	116.3	71.2	26.15	0.00	5.86
Theoretical spiking	5.00	0.00	0.00	0.00	5.00	3.00	3.00
Theoretical conc. for spiked sample	27.44	970	116.3	71.2	31.15	3.00	8.86
Mean Wine 7 spiked	27.57	994	119.9	72.9	32.22	2.99	8.77
Recovery % Wine 7 spiked	100.5	102.4	103.0	102.4	103.4	99.8	98.9

Chromatogram Standard



Chromatogram Wein



7. Erfahrungen

- Vorteile
 - 4 Kationen und 3 biogene Amine mit einer Analyse,
 - einfache Probenvorbereitung, Benutzerfreundlich , gute Software ,
 - System schaltet automatisch ab nach der letzten Probe (Wochenende),
 - keine giftigen Lösungsmittel,
 - stabile Analysenwerte, hohe Präzision,
 - Ausbaubar für die Anionenanalytik
- evt. Nachteile:
 - die Lebensdauer der Metrosep C1 ist unbekannt, Kostenpunkt einer Säule 2376 Sfr.-
 - Analysendauer 30 Minuten,

Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit



kay.pfluger@schenk-wine.ch