

Die Bestimmung von Azid in Wein mit HPLC = The determination of azide in wine with HPLC

Autor(en): **Gauch, R. / Leuenberger, U. / Müller, U.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **77 (1986)**

Heft 1

PDF erstellt am: **05.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983379>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Kurze Mitteilungen – Communications brèves

Die Bestimmung von Azid in Wein mit HPLC

The Determination of Azide in Wine with HPLC

R. Gauch, U. Leuenberger und U. Müller
Kantonales Laboratorium, Bern

Einleitung

Natriumazid (NaN_3) wirkt in Konzentrationen von 1–10 mg/kg hemmend auf Hefen. Da dieser Konservierungsstoff jedoch als starkes Protoplasmagift erkannt wurde, ist er zur Haltbarmachung von Lebensmitteln nicht zugelassen. Trotzdem wird gelegentlich über den illegalen Einsatz von Natriumazid als Konservierungsmittel in Wein mit Restsüsse und in Traubensaft bei Anwendungskonzentrationen von 1–3 mg/l berichtet.

In der Literatur wird zur Hauptsache eine Bestimmung auf kolorimetrischem Wege beschrieben (1). Es hat sich gezeigt, dass diese Methode relativ zeitaufwendig ist und zu falsch-positiven Resultaten führen kann. Aus diesem Grunde schlagen wir eine andere Bestimmungsmethode vor, welche die oben erwähnten Nachteile nicht aufweist.

Experimentelles

Prinzip der Methode

Nach Ansäuern des Weines wird die freigesetzte Stickstoffwasserstoffsäure abdestilliert und zugleich aufkonzentriert. In den ersten 0,6 ml des Destillates werden rund 70% des Azides aufgefangen. Ein Aliquot dieses Destillates wird direkt mit HPLC auf einer Anionentauschersäule chromatographiert und das Azid mit Hilfe eines Leitfähigkeitsdetektors quantitativ bestimmt.

Geräte

- Destillationsanlage gemäss Abbildung 1 (Semimikrosatz Elnor, Trabold Bern).
- Isokratische HPLC-Anlage, bestehend aus
Pumpe (hinreichend pulsarm für den Leitfähigkeitsdetektor)
Trennsäule $L = 30$ cm, $ID = 3,9$ mm, gefüllt mit Vydac Anionentauscher $10 \mu\text{m}$ (Bucher, Basel)
Leitfähigkeitsdetektor Wescan 213A (Bucher, Basel).
- Spektrofotometer UVIKON 819 (Kontron, Zürich).

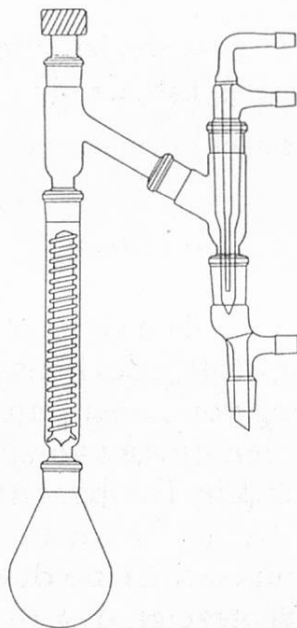


Abb. 1. Destillationsapparatur

Reagenzien

- Phosphorsäure mind. 85%, Art. 573 (Merck).
- Natriumhydroxid, 1 m Lösung.
- Kaliumhydrogenphthalat, Art. 4876 (Merck).
Herstellen des Elutionsmittels:
0,4 g Kaliumhydrogenphthalat in 1 l bidest. Wasser lösen und mit 1 m NaOH auf pH 5 stellen.
- Salzsäure, 1 m Lösung.
- Natriumazid reinst, Art. 6688 (Merck).
- Eisen(III)-chlorid z. A., Art. 3943 (Merck);
Lösung davon: 1% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 1 m Salzsäure.

Standardlösungen

- Stammlösung (ca. 20 mg/100 ml):
Ca. 20 mg Natriumazid werden genau eingewogen, in einem 100-ml-Messkolben mit Wasser gelöst und bis zur Marke aufgefüllt.
- HPLC-Vergleichslösung:
Die Stammlösung wird mit Wasser so verdünnt, dass eine Konzentration von 2,5 mg NaN_3 /100 ml resultiert.

Herstellen des Destillates

In einen 50-ml-Birnkolben werden
25 ml Wein und
0,2 ml Phosphorsäure abgemessen und mit
1 Siedestein versetzt.

Der Kolben wird an die Destillationsapparatur angeschlossen und mit einem Bunsenbrenner erhitzt. (Der Kolben steht auf einem Vierbein mit Keramikplatte.)

Das Destillat wird in einem graduierten Reagenzglas oder Messzylinder aufgefangen.

Total werden 0,6 ml Destillat hergestellt; darin sind ca. 70% des Azids nachweisbar. Diese Lösung kann nun direkt mit HPLC aufgetrennt werden.

Anmerkung: Die Wiederfindungsrate ist abhängig von der Art der Destillationsanlage und muss deshalb stets durch einen Additionsversuch mit 1 mg NaN_3 /l Wein, entsprechend 125 μl der Na-Azid-Stammlösung zu 25 ml Wein, bestimmt werden.

Chromatografie des Destillates

Je 100 μl der HPLC-Vergleichslösung bzw. des Destillates aus der Probelösung sowie des Destillates aus dem Additionsversuch mit 1 mg/l Wein einspritzen. Die Berechnung erfolgt aufgrund des Additionsversuches mit Hilfe der Methode des externen Standards.

Durchflussrate: 2 ml/min
Retentionszeit Azid: ca. 6,5 min
Detektoreinstellungen: Range x 1
Nullabgleich grob x 2
Nullabgleich fein ca. x 3

Bestätigung eines positiven Befundes

(Für Gehalte grösser als 0,5 mg Na-Azid/l Wein)

Die restlichen 500 μl des Destillates werden zur Gewinnung der chromatografierten Azidfraktion mit einer einzigen Injektion eingespritzt. Die Fraktion des

Azidpeaks wird in einem graduierten 5-ml-Messzylinder aufgefangen, total 2,5 ml.

In gleicher Weise werden 500 μl des Destillates aus dem Additionsversuch und wenn möglich eines Destillates aus azidfreiem Wein behandelt.

Die aufgefangenen Fraktionen werden je mit 0,10 ml Eisen(III-chloridlösung versetzt und gegen einen Blindwert aus 2,50 ml Elutionsmittel mit 0,1 ml Eisen-III-chloridlösung gemessen.

Messbedingungen: Aufnahme des Absorptionsspektrums zwischen 400–500 nm
Skalendehnung ca. 0,100 Extinktionseinheiten
Halbmikroküvetten mit 1 cm Schichtdicke.

Beurteilung der Spektren: Azidhaltige Proben ergeben ein schwach ausgeprägtes Maximum bei 458 nm. Eine Extinktion von 0,010 entspricht einem Natriumazidgehalt von 12,3 $\mu\text{g}/2,6$ ml Messlösung bzw. ca. 0,8 mg/l Wein.

Resultate und Diskussion

Aus Abbildung 2 ist ersichtlich, dass Azidgehalte von 1 mg/l problemlos nachgewiesen werden können. Die Nachweisgrenze liegt bei etwa 0,1 mg Na-Azid/l Wein.

Untersuchungen verschiedenster Weinsorten führten zu keinem falsch-positiven Ergebnis, da dank des selektiven Leitfähigkeitsdetektors und der Anionentauschersäule keine Störsignale durch Inhaltsstoffe des Weins auftraten.

Die Methode ist rasch und zuverlässig. Im Vergleich zu kolorimetrischen Methoden muss weder der Alkohol noch die schweflige Säure vor der Messung des Azids abgetrennt werden.

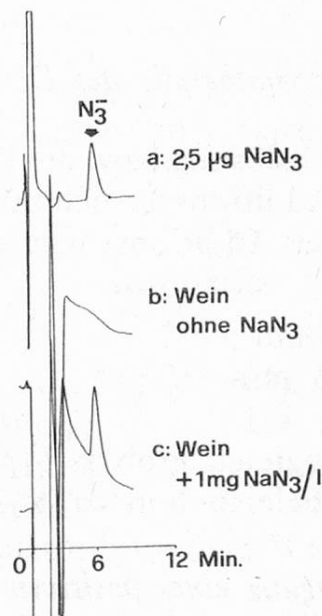


Abb. 2. a = Chromatogramm eines Natrium-Azid-Standards (Bedingungen vgl. Text)
b = Chromatogramm eines Weindestillates ohne Azidzusatz
c = Chromatogramm eines Weindestillates verstärkt mit 1 mg Na-Azid/l Wein

Wichtige Hinweise

Die Wiederfindungsrate ist direkt abhängig von der Anordnung der Destillationsapparatur: Es ist darauf zu achten, dass die Destillationswege hinreichend kurz sind, ohne auf eine minimale Trennleistung zu verzichten. Ein graduiertes Auffanggefäß erleichtert ein Abmessen des Destillates. Mit Hilfe der beschriebenen Destillationsapparatur können aus 25 ml vorgelegten Weines in den ersten 1,5 ml des Destillates rund 100% Azid aufgefangen werden. Um eine möglichst niedrige Nachweisgrenze zu erzielen, werden aber nur 0,6 ml Destillat aufgefangen, worin ca. 70% des Azids enthalten sind.

Der Leitfähigkeitsdetektor muss temperaturkonstant gehalten werden.

Der pH-Wert des Elutionsmittels im Bereich zwischen 4-6 beeinflusst den Frontpeak, jedoch nicht den Azidpeak.

Der Azidgehalt von 1 mg/l Wein blieb beim Aufbewahren bei Zimmertemperatur während 2 Monaten stabil.

Dank

Fräulein *H. Haldimann* und Herrn *H. P. Bähler* sei für die zuverlässige Mithilfe bei den experimentellen Arbeiten herzlich gedankt.

Zusammenfassung

Es wird die Bestimmung von Azid in Wein mit Hilfe der HPLC beschrieben. Aus angesäuertem Wein wird durch Destillation in einer ersten Fraktion ein Destillat aufgefangen, in welchem Azid direkt bestimmt werden kann. Das HPLC-System besteht aus einer Anionenauschersäule und einem Leitfähigkeitsdetektor. Die Nachweisgrenze liegt bei ca. 0,1 mg Na-Azid/l Wein. Positive Resultate lassen sich aus der aufgefangenen HPLC-Fraktion mit Hilfe eines farbigen Eisenkomplexes spektrofotometrisch bestätigen.

Résumé

Une méthode de dosage par HPLC de l'azide dans le vin est décrite. L'azide peut être dosé directement dans une première fraction de la distillation du vin acidifié. Le système HPLC se compose d'une colonne d'échangeur d'anions et d'un détecteur de conductibilité. La limite de détection est d'environ 0,1 mg d'azide de sodium/l vin. Les résultats positifs peuvent être confirmés par spectrophotométrie, à l'aide d'un complexe de fer coloré obtenu dans la fraction HPLC.

Summary

The determination of azide in wine with HPLC is described. A distilled fraction from acidified wine is collected, from which azide is determined directly by HPLC. The latter

consists of a anion exchange column and a conductivity detector. The limit of detection is approx. 0.1 mg Na-azide/l wine. Positive results may be confirmed from the HPLC fraction by spectrophotometry of a colored iron complex.

Literatur

1. Verheiden, F.: L'antiseptique acide azohydrique et sa recherche dans le vin. Ann. Fals. Exp. Chim. **67**, 33-37 (1974).

R. Gauch
Dr. U. Leuenberger
Dr. U. Müller
Kantonales Laboratorium
Postfach
CH-3000 Bern 9