



Application Note AN-S-396

Bewertung der Weinqualität mit IC

Analyse organischer Säuren mit suppressierter
Leitfähigkeitsdetektion

ZUSAMMENFASSUNG

Art und Konzentration der organischen Säuren sind wichtige Parameter in der Önologie. Sie wirken sich auf die organoleptischen Eigenschaften (Farbe, Geschmack und Aroma) und die Stabilität des Weins aus und tragen dazu bei, Veränderungsprozesse und die Authentizität des Weins nachzuweisen [1]. Weinsäure und Apfelsäure machen den größten Anteil der organischen Säuren im Wein aus und stammen aus den Trauben selbst. Während der Weinlagerung nimmt die Konzentration an freier Weinsäure ab, da sie sich an andere Bestandteile bindet und ausfällt. Gleichzeitig kann sich die Apfelsäure in Milchsäure umwandeln. Andere organische Säuren bilden sich als Produkte während der alkoholischen Gärung [1] und beeinflussen den Geschmack. Essigsäure zum Beispiel verursacht einen unerwünschten Essiggeschmack. Insgesamt ist die Überwachung der organischen Säuren von entscheidender Bedeutung für die Verbesserung von

Geschmack und Qualität und für die Erfüllung universeller, standardisierter Kriterien wie dem Internationalen Kodex für die önologische Praxis [2]. Organische Säuren können mittels Ionenchromatographie (IC) und suppressierter Leitfähigkeitsdetektion genau analysiert werden. Diese Multikomponentenmethode ermöglicht es auch anorganische Säuren zu bestimmen, die ebenfalls wertvolle Indikatoren für die Qualität und den Geschmack des Weins sind. In dieser Application Note werden zwei IC-Methoden für die Analyse der Weinqualität vorgestellt: eine schnelle isokratische Screening-Methode für die wichtigsten organischen Säuren und Anionen, einschließlich Sulfid, und eine komplexe Überwachungsmethode mit einem binären Gradienten zur Trennung von 15 organischen Säuren. Die Inline-Ultrafiltration wurde für eine wirtschaftliche Probenvorbereitung eingesetzt.

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Die Rot- und Weißweinproben wurden 10-50-fach mit Reinstwasser (UPW). Um die Oxidation zu minimieren, wurden die Probengefäße mit entsprechenden Stopfen verschlossen. Mit Hilfe der

Inline-Ultrafiltration wurden die Proben vor der Injektion automatisch durch eine 0,22-µm-Membran (regenerierte Zellulose) gefiltert.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Da alle organischen Säuren leicht ionisieren, können ihre konjugierten Basen mittels Ionenchromatographie mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion analysiert werden. Für eine **schnelle Screening-Analyse** wurde die chromatographische Trennung auf einer Metrosep A Supp 10-Säule mit isokratischer Elution durchgeführt (**Abbildung 1**). In weniger als 20 Minuten werden die organischen Säuren Acetat, Malat, Tartrat, Oxalat und

die Anionen Chlorid, Phosphat, Sulfid und Sulfat getrennt. Um eine mögliche Sulfatkontamination zu vermeiden, wurde Sulfid separat kalibriert. Hierfür wurde es mit 2-Propanol (2 % in den Arbeitsstandardlösungen) stabilisiert. Obwohl Sulfid mit Hilfe dieser Multikomponentenmethode bestimmt werden kann, wird für eine gezielte Sulfidanalyse auf die im White Paper WP-065 [3] beschriebenen Methoden verwiesen.

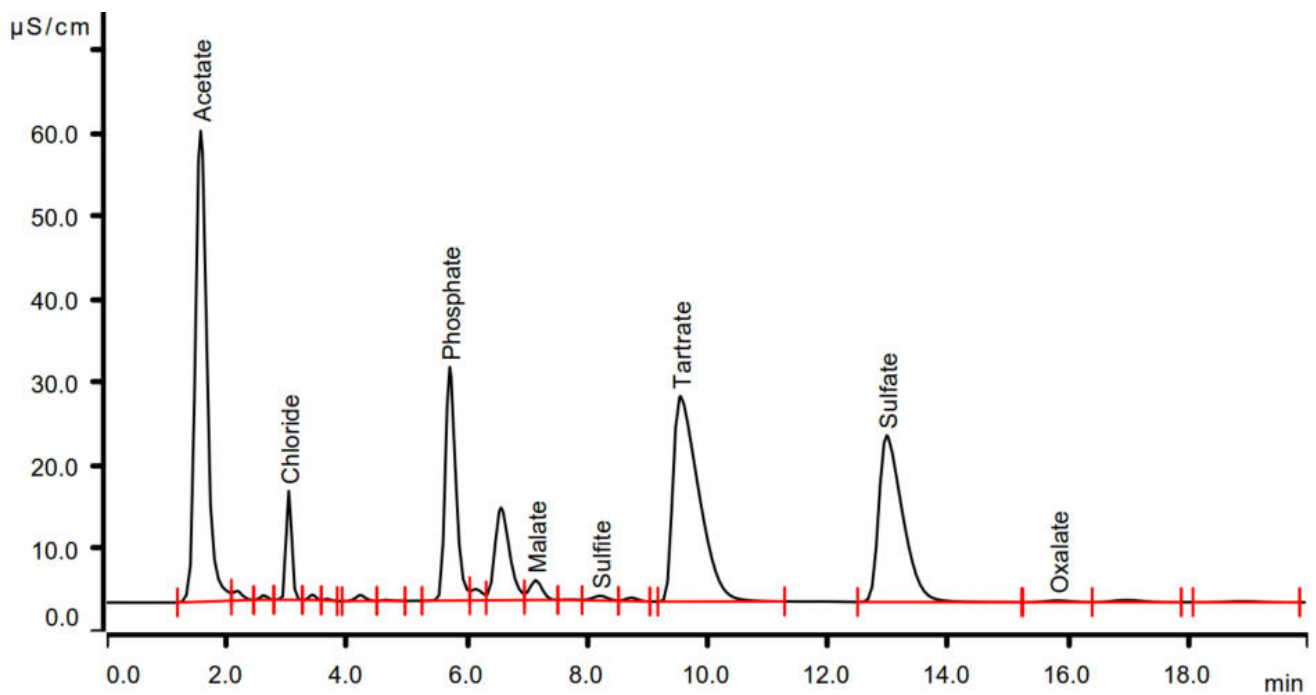


Abbildung 1. Schnelles Screening der wichtigsten organischen Säuren (Acetat (nicht quantifiziert), Malat (105 mg/L), Tartrat (1534 mg/L) und Oxalat (<10 mg/L)) und der wichtigsten Anionen (Chlorid (22 mg/L), Phosphat (818 mg/L), Sulfid (29 mg/L) und Sulfat (367 mg/L)) in einer Weißweinprobe (Injektionsvolumen 20 µL). Die isokratische Elution erfolgte auf einer Metrosep A Supp 10 - 100/4.0 Säule unter Verwendung eines Carbonat-Eluenten. (5,0 mmol/L Na₂CO₃ + 5,0 mmol/L NaHCO₃ + 5 µmol/L HClO₄, Flussrate 1 mL/min, Säulentemperatur 35 °C). Die suppressierte Leitfähigkeitsdetektion ermöglicht eine Detektion mit einer geringen Hintergrundleitfähigkeit für den Nachweis im mg/L-Bereich.

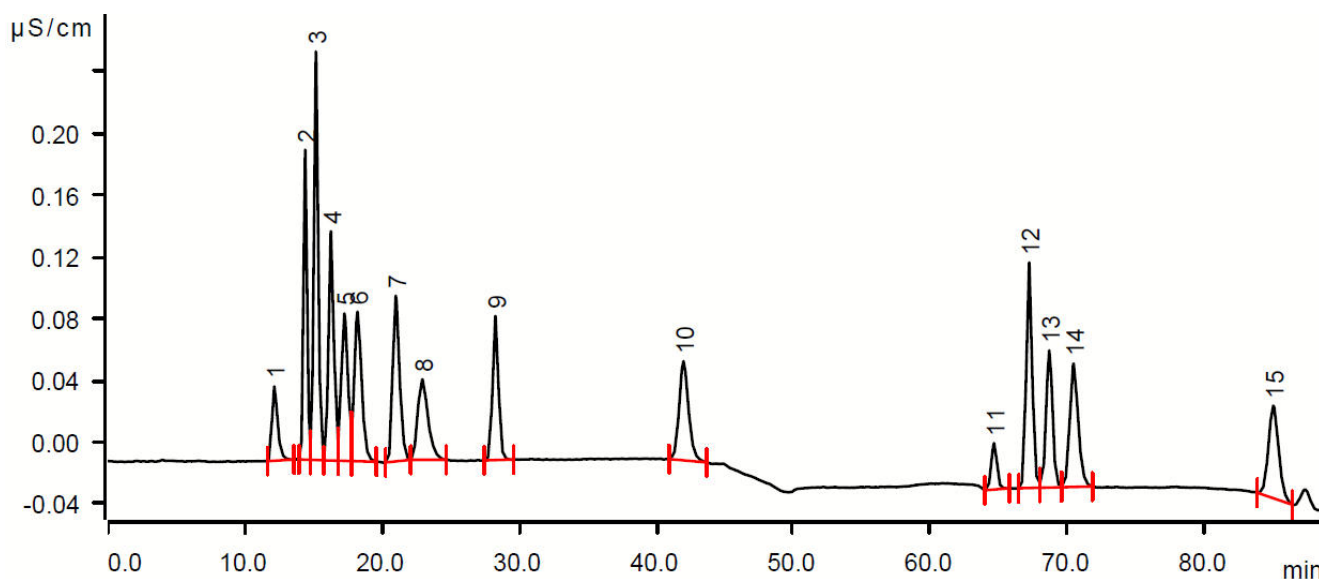


Abbildung 2. Die Abbildung zeigt das suppressierte Leitfähigkeitssignal für die Überwachung der komplexen organischen Säuren Gluconat (1), Lactat (2), Acetat (3), Propionat (4), Iso-Butyrat (5), Butyrat (6), Methacrylat (7), Valerat (8), Methylsulfat (9), Dichloracetat (10), Malonat (11), Malat (12), Glutarat (13), Adipat (14) und Phthalat (15) in einem gemischten Standard von 1 mg/L (Injektionsvolumen 20 µL). Die Trennung erfolgte auf einer Metrosep A Supp 7 - 250/4.0-Säule mit einem binären Gradienten (Eluent A: Reinstwasser, Eluent B: 6,4 mmol/L Na₂CO₃ + 2,0 mmol/L NaHCO₃, Flussrate 0,7 mL/min, Säulentemperatur 45 °C).

Durch die Trennung auf einer Metrosep A Supp 7-Säule mittels eines Gradienten kann eine umfangreiche Analyse der organischen Säuren für ein **komplexes Monitoring** durchgeführt werden. (Abbildung 2). Mit Hilfe des Carbonat-Reinstwasser-Gradienten konnten die folgenden 15 organischen

Säuren getrennt werden: Gluconat, Lactat, Acetat, Propionat, Isobutytrat, Butyrat, Methacrylat, Valerat, Methylsulfat, Dichloracetat, Malonat, Malat, Glutarat, Adipat und Phthalat. Der Versuchsaufbau ist in **Abbildung 3** dargestellt.

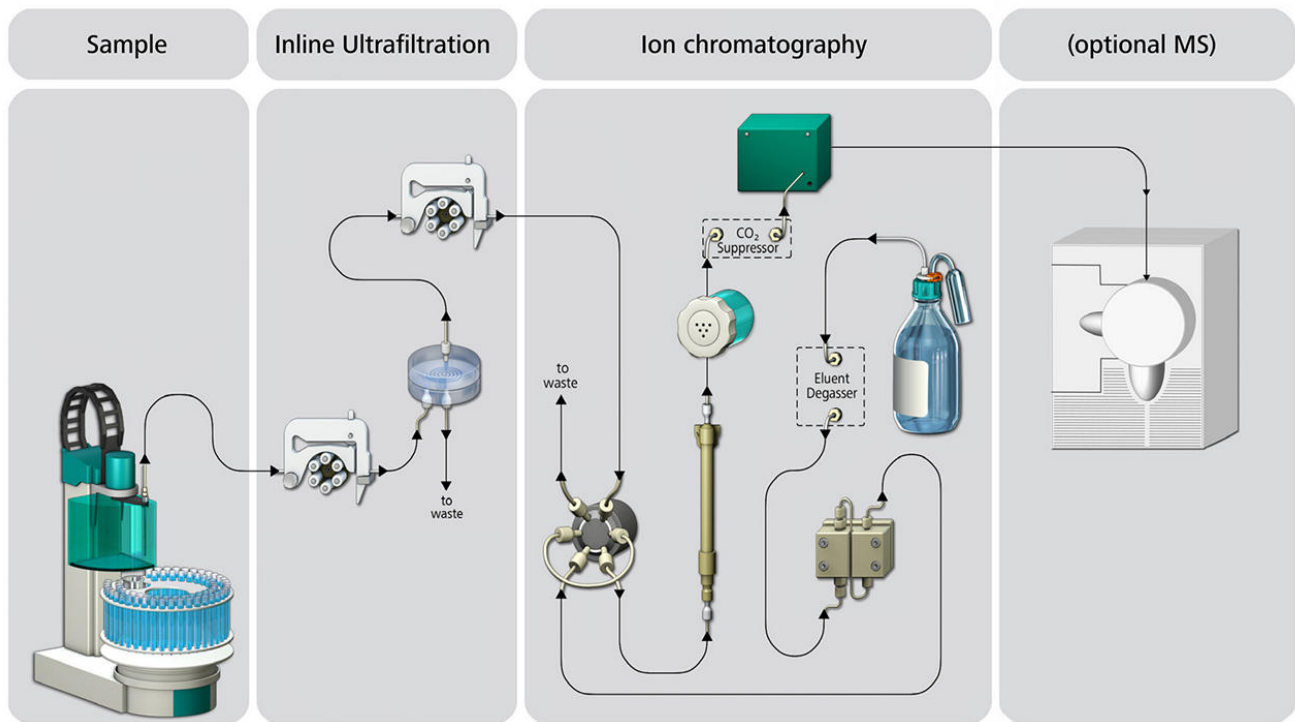


Abbildung 3. Flussschema für das schnelle Screening von organischen Säuren und Anionen mit Ionenchromatographie und suppressierter Leitfähigkeitsdetektion. Als Probenvorbereitungsschritt wird die Inline-Ultrafiltration eingesetzt, um die Gesamtanalyse im Hinblick auf die Laborzeit und -kosten zu optimieren. Nach Einführung der Probe (858 Professional Sample Processor) passiert die Probe die Ultrafiltrationszelle. Die Proben werden mit einer 0,2 µm Membran aus regenerierter Zellulose filtriert. Je nach Matrix können bis zu 100 Proben analysiert werden, bevor die Membran gewechselt werden muss, und das mit einer Verschleppung von weniger als 0,1 %. Nach der Injektion und Trennung mit einer hochkapazitiven Anionensäule werden durch sequentielle Suppression Kationen und Carbonat entfernt, was das Hintergrundsignal im Leitfähigkeitsdetektor deutlich reduziert. Für die Überwachung komplexer organischer Säuren müssen dem System eine zweite Hochdruckpumpe und eine Mischkapillare hinzugefügt werden. Ein zusätzlicher Massenspektrometer, angeschlossen am Ausgang des Leitfähigkeitsdetektors, kann eine wertvolle Ergänzung für die Peak-Bestätigung sein und noch bessere Nachweisgrenzen liefern.

ERGEBNISSE

Das **schnelle Screening** der organischen Säuren und Anionen dauerte weniger als 20 Minuten. In beiden Proben war Weinstein die wichtigste organische Säure und Phosphat und Sulfat waren die vorherrschenden Anionen, wobei die Gehalte an

Weinstein und Sulfat im Weißwein etwas geringer waren (**Tabelle 1**). Bei dreifacher Injektion lag die relative Standardabweichung sowohl beim Weißwein als auch beim Rotwein unter 2 % (**Tabelle 1**).

Tabelle 1. Quantifizierung der organischen Säuren und Anionen in einer Rot- und Weißweinprobe. Die Probenverdünnung erfolgte in Reinstwasser mit einem Verdünnungsfaktor von 10 (50 für Tartrat). Die Proben wurden mit der schnellen Screening-Methode zur Bestimmung der wichtigsten organischen Säuren und Anionen in Weinproben analysiert.

Analyt	Rotwein (mg/L) (RSD)	Weißwein (mg/L) (RSD)
Chlorid	60 (0,03%)	22 (0,04%)
Phosphat	771 (0,2%)	818 (0,1%)
Malat	92 (0,1%)	105 (0,2%)
Sulfit	27 (2%)	29 (0,4%)
Tartrat	1756 (0,1%)	1534 (0,6%)
Sulfat	553 (0,01%)	367 (0,01%)
Oxalat	<10	<10

Eine Gradientenelution verbesserte die Peakauflösung für eine komplexe Überwachungsanalyse von 15 organischen Säuren. Die suppressierte Leitfähigkeitsdetektion ermöglichte einen empfindlichen Nachweis in einem Arbeitsbereich von 0,1 bis 5 mg/L. Beide Methoden zeigen eine ausgezeichnete Leistung im unteren mg/L-Bereich. Die Detektion des suppressierten Leitfähigkeitssignals

verhindert Störungen durch UV-aktive Komponenten, die bei der UV-Detektion auftreten. Die Probenvorbereitung mit der **Inline-Ultrafiltration** macht diesen unvermeidlichen (in der Regel manuellen) Schritt sowohl zeit- als auch kosteneffizient und garantiert gleichzeitig den Schutz der Säule.

FAZIT

Die Profile der Ionenzusammensetzung in Weinen lassen sich mit IC und Leitfähigkeitsdetektion leicht quantifizieren. Die Ionenaustauschchromatographie ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung von anorganischen Anionen und organischen Säuren in einem Lauf, im Gegensatz zur Ionenausschluss, die nur organische Säuren trennt. Mit der **schnellen Multikomponenten-Screening-Analyse** kann der Probendurchsatz in Labors maximiert werden. Die Probenvorbereitung kann durch Inline-Ultrafiltration vereinfacht werden, wodurch die Säule geschützt und die Geräteleistung verbessert wird. In Kombination mit der Metrohm Inline-Verdünnung und der Möglichkeit der automatischen Kalibrierung kann

zusätzlich an Zeit und Kosten gespart werden. Der manuelle, fehleranfällige Verdünnungsschritt von Proben und Standards entfällt, die Laborzeit wird eingespart, die Genauigkeit und Präzision verbessert. Die **Überwachung komplexer organischer Säuren** mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion profitiert von der höheren Empfindlichkeit im Vergleich zu UV-Detektionsmethoden und der geringeren Interferenz mit UV-aktiven Zuckern und Phenolen in solchen Weinproben. Wenn die Identität der Peaks bestätigt werden muss oder sehr niedrige Nachweisgrenzen erforderlich sind, kann das IC-System mit einem empfindlichen Massenspektrometer kombiniert werden (**Abbildung 3**).

REFERENZEN

1. Waterhouse et al. (2016), John Wiley & Sons, UK, ISBN 1118627806
2. International Organization of Vine and Wine (OIV) (2021), OIV, France, ISBN 978-2-85038-030-3

3. Metrohm, [WP-065 Simplified sulfite determination in foods and beverages using ion chromatography](#)

Interne Referenzen: AW IC US6-0249-062017; AW IC

CH6-1266-012016

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

GERÄTEKONFIGURATION

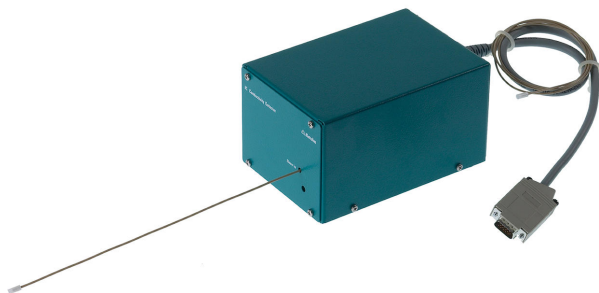


940 Professional IC Vario ONE/SeS/HPG

Der 940 Professional IC Vario ONE/SeS/HPG ist das intelligente IC-Gerät mit **sequenzieller Suppression** und **binärem Hochdruckgradient**. Es kann mit 942 Extension Modulen bis zu einem quaternären Gradientensystem ausgebaut werden. Zur Regeneration des Suppressors kann ein 800 Dosino eingesetzt werden. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Gradientenanwendungen zur Anionen- oder Kationenbestimmungen mit sequenzieller Suppression



IC Conductivity Detector

Kompakter und intelligenter Hochleistungs-Leitfähigkeits-Detektor zu den intelligenten IC Geräten. Hervorragende Temperaturkonstanz, die gesamte Signalverarbeitung innerhalb des geschützten Detektorblocks und DSP – Digital Signal Processing – der letzten Generation garantieren höchste Präzision der Messung. Dank dem dynamischen Arbeitsbereich sind keine (auch nicht automatische) Bereichswechsel notwendig.



Metrosep A Supp 7 - 250/4.0

Nebenprodukte aus der Wasseraufbereitung (disinfection by-products) stehen im Verdacht, nicht nur gesundheitsschädlich sondern sogar krebserregend zu sein. Deshalb sind die Oxohalogenide Gegenstand vieler Untersuchungen und Standards geworden (z. B. EPA 300.1 Part B, EPA 317.0, EPA 326.0). In erster Linie geht es dabei um Bromat, welches bei der Ozonisierung von Trinkwasser aus Bromid entsteht. Die Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 stellt eine Hochleistungstrennsäule für die parallele Bestimmung der Standardanionen, der Oxohalogenide und der Dichloressigsäure dar. Mit dieser Säule werden diese Ionen bis in den unteren $\mu\text{g/L}$ -Bereich hinein sicher und präzise bestimmt. Die hohe Nachweisempfindlichkeit wird durch den Einsatz des 5- μm -Polyvinylalkohol-Polymers erreicht, mit dem extrem hohe Bodenzahlen und damit ausgezeichnete Trenn- und Nachweiseigenschaften erzielt werden. Zusätzlich kann die Trennung durch Veränderung der Temperatur an die spezifischen Erfordernisse der Applikation angepasst werden.



858 Professional Sample Processor – Pump

Der 858 Professional Sample Processor – Pump verarbeitet Proben von 500 μL bis 500 mL. Der Probentransfer erfolgt entweder mit der eingebauten bidirektionalen Zweikanal-Peristaltikpumpe oder mittels eines 800 Dosino.



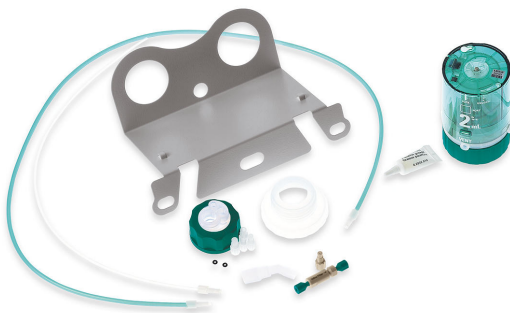
800 Dosino

Der 800 Dosino ist ein Antrieb mit Schreib-/Lesehardware für intelligente Dosiereinheiten. Mit fest montiertem Kabel (Länge 150 cm).



MSM-HC Rotor A

Suppressor-Rotor für alle IC-Geräte mit MSM-HC (Metrohm Suppressor Modul mit hoher Kapazität)



IC-Ausrüstung: Dosino Regeneration

Zubehörset zur Montage eines Dosinos zur automatischen Regeneration des Metrohm Suppressor Module (MSM).