Produktinformation

YMC EUROPE GMBH

YMC-Triart C18
Kapillarsäule

Allergen-Detektion in Weißwein mit einer YMC-Triart C18 Kapillarsäule

Autor: DE
Datum: 23.08.2013

Einleitung

In den finalen Prozessschritten der Weinproduktion wird jegliche Trübung entfernt. Dazu werden Reagenzien wie Casein zur Klärung in die Weinfässer gerührt. Dort bilden sie Agglomerate mit den Sedimenten und setzen sich dann am Fassboden ab. Nach erfolgter Klärung wird der Wein abgestochen, um die Sedimente abzutrennen.

Im Rahmen einer Weinuntersuchung wurde Casein in Spuren (< 2 ppm) gefunden. Daraufhin schlussfolgerte die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), dass mit Casein oder Milchprodukten geklärter Wein Überempfindlichkeitsreaktionen bei sensitiven Menschen hervorrufen kann [1]. Außerdem stellt eine neue EU-Gesetzgebung zur Weindeklaration [2] den Bedarf an Methoden zur Detektion von Klärungsmitteln, wie Casein, Ovalbumin aus Eiern etc, in Wein heraus.

AB SCIEX hat eine Methode zur Caseindetektion in Wein im sub-ppm-Bereich unter Verwendung einer YMC-Triart C18 Kapillarsäule mit einem neuen microflow LC/MS/MS-System entwickelt [3].

Ergebnisse

Die ersten Ergebnisse zur Säulenselektion zeigen eine typische Zunahme der Selektivität um das 4- bis 12-fache des S/N-Verhältnisses beim Wechsel vom hohen Fluss zum Mikrofluss. Abbildung 1 zeigt die Trennung von zwei Peptiden, die mittels Micro-LC analysiert wurden im Vergleich zur Trennung mit höheren Flussraten. Die Resultate zeigen eine deutliche Erhöhung der Sensitivität bei Verwendung der Micro-LC. Die Sensitivität bleibt auch erhalten wenn die Analysenzeit weiter auf eine Laufzeit von 5,5 min verkürzt wird, um die Analyse zu beschleunigen (verkürzter Gradient: siehe Tabelle 2, Seite 3).

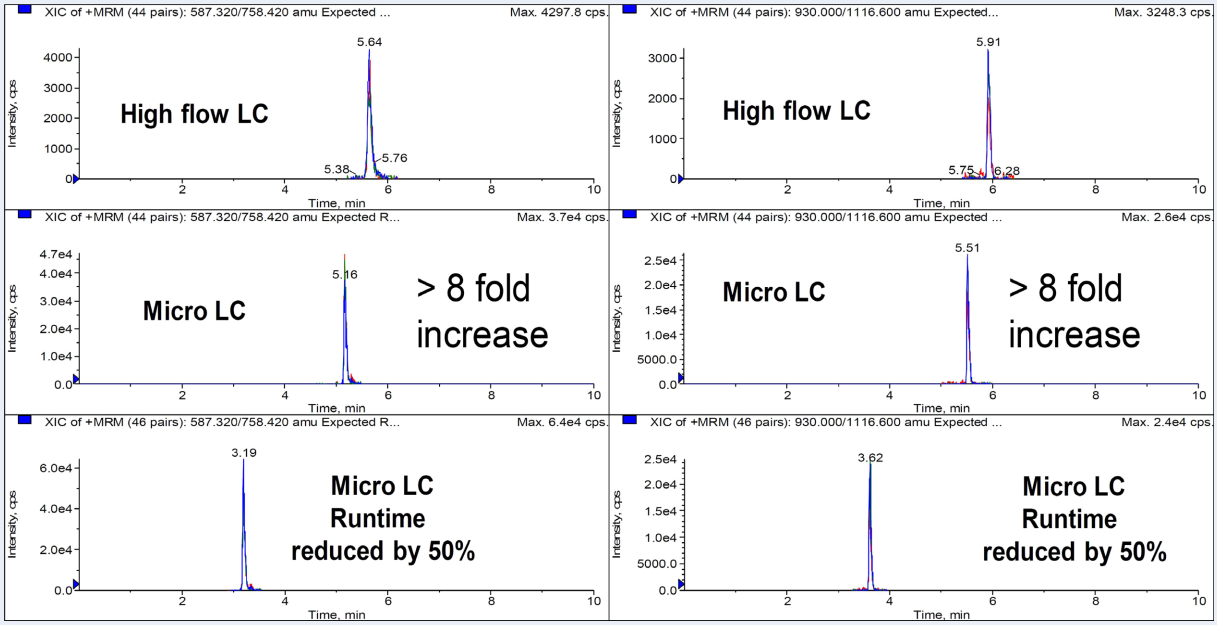


Abbildung 1: Vergleich von Hochfluss- und Micro-LC bei Verwendung eines jeweils mit 1 ppm Casein (links) oder Eipeptid (rechts) versetzten Wein.

Allergen-Detektion in Weißwein mit einer YMC-Triart C18 Kapillarsäule

Autor: DE

Datum: 23.08.2013

	Hochfluss	Mikrofluss
Säule	Phenomenex Kinetex XB-C18 (2,6 µm, 10 nm, 50 x 2,1 mm ID)	YMC-Triart C18 (3 µm, 12 nm, 50 x 0,5 mm ID)
HPLC	Shimadzu XP	Eksigent ekspert microLC 200
Eluent	A) Wasser (+ 0,1% FAC) B) Acetonitril (+ 0,1% FAC)	
Gradient	min A B 0 – 2 98 2 8 40 60 8,2 – 9 5 95 9,1 – 10 98 2	
Flussrate	300 µl/min	25 µl/min
Temperatur	40 °C	
Detektion	AB SCIEX 5500 QTRAP, ESI	
Injektion	10 µl	

Tabelle 1: Hochfluss- und Mikrofluss-Bedingungen zur Bestimmung von Casein und Eipeptid.

Die gleichen Sensitivitäten wie zuvor zeigten sich in zwei weiteren Weißweinanalysen mittels Micro-LC/MS/MS. Außerdem war es möglich weitere Milch- und Eiproteine in nur einem Lauf zu detektieren und zu identifizieren (Abbildung 2).

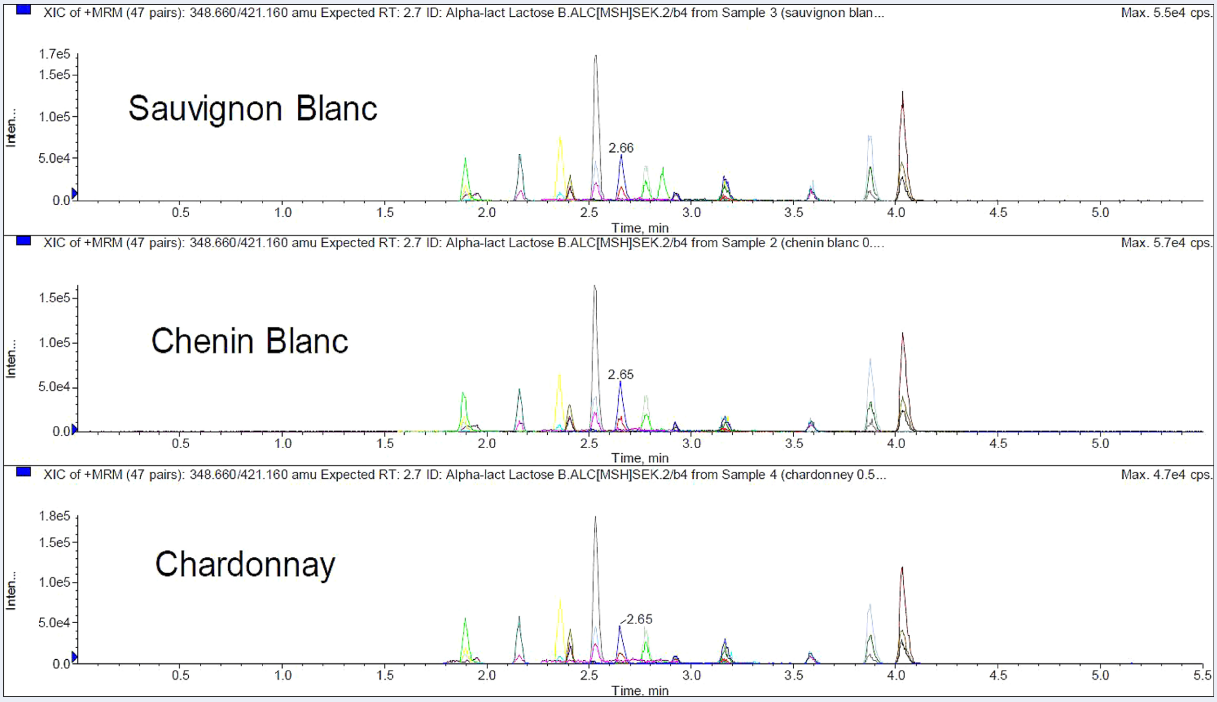


Abbildung 2: Micro-LC-MS/MS-Analyse von 3 verschiedenen Weißweinen, jeweils mit 0,5 ppm verschiedener Milch- und Eiproteine versetzt.

Säule	YMC-Triart C18 (3 µm, 12 nm, 50 x 0,5 mm ID)		
Eluent	A) Wasser (+ 0,1% FAC) B) Acetonitril (+ 0,1% FAC)		
Gradient	min 0 – 0,3 4 4,1 – 4,3 4,4 – 5,5	A 98 60 5 98	B 2 40 95 2
Flussrate	25 µl/min		
Temperatur	40 °C		
Detektion	AB SCIEX 5500 QTRAP, ESI		
Injektion	10 µl		

Tabelle 2: Verkürzte Micro-LC-MS/MS Methode.

Die Linearität und Sensitivität dieser Methode wird in Abbildung 3 gezeigt. Ein Sauvignon Blanc wurde mit Caseinpeptid versetzt (0,05 – 2 ppm). Die Linearität wird erhalten ohne Verwendung von internen Standards. Das eingefügte Chromatogramm für eine mit Casein versetzte Probe mit 50 ppb zeigt die extrem hohe Sensitivität.

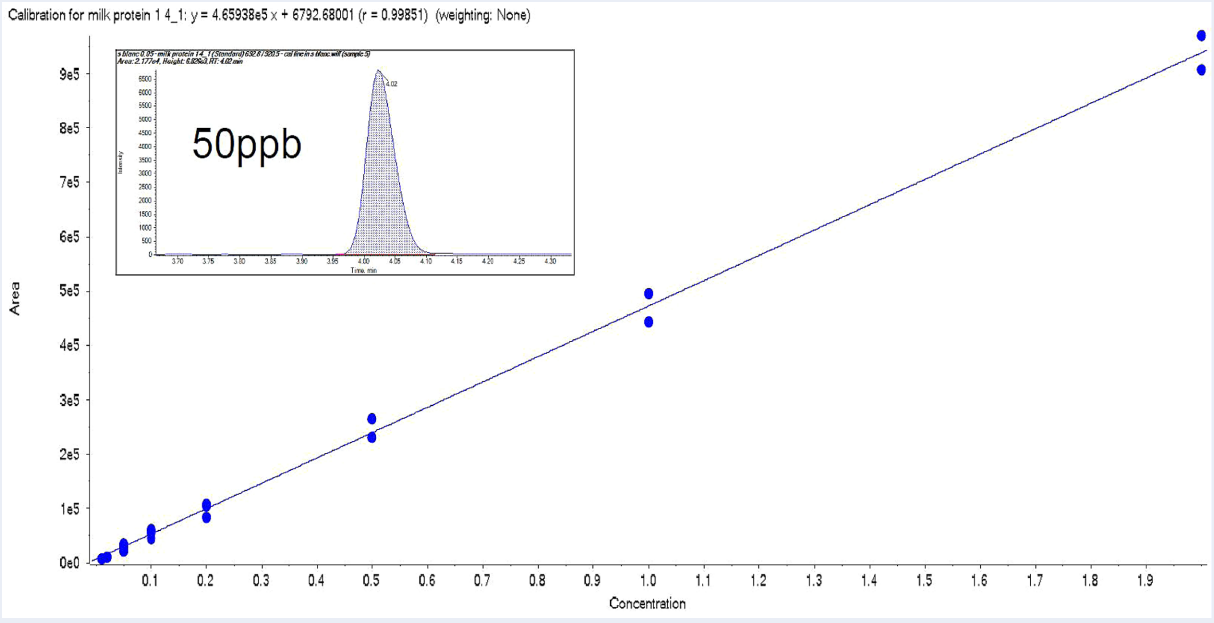


Abbildung 3: Kalibrationsgerade eines Caseinpeptids, mit dem ein Sauvignon Blanc versetzt wurde und Chromatogramm einer versetzten Probe mit 50 ppb.

Allergen-Detektion in Weißwein mit einer YMC-Triart C18 Kapillarsäule

Autor: DE
Datum: 23.08.2013

Zusammenfassung

Verschiedenste Milch- und Eiermarker können simultan in Weißwein unter Verwendung einer YMC-Triart C18 Kapillarsäule mit einem Micro-LC/MS/MS-System bestimmt werden. Selbst Spuren können analysiert werden, da das Detektionslimit auf unter 100 ppb gesenkt werden konnte.

Außerdem kann die Analysenzeit halbiert werden bei gleichzeitiger Steigerung der Sensitivität um das 10-fache und Reduktion des Lösungsmittelverbrauchs durch die Verwendung einer Micro-LC.

Die Verwendung eines Micro-LC/MS/MS-Systems hat den zusätzlichen Vorteil des Screenings verschiedenster Allergene aus Milch und Ei mit nur einer Methode.

Literatur

[1] Scientific Opinion related to a notification from the International Organization of Vine and Wine on casein/caseinate/milk products to be used in the manufacture of wine as clarification processing aids pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 200/13/EC – for permanent exemption from labelling, EFSA Journal 2011, 9(10), 2384.

[2] Commission Regulation (EU) No 1266/2010 of 22 December 2010 amending Directive 2007/68/EC as regards labelling requirements for wines, 2010.

[3] Lock S, Allergen detection in wine by LC/MS/MS, Poster presented at the 127th AOAC International 2013 Annual Meeting & Exposition in Chicago, August 25 – August 28, 2013.

Trademarks

Kinetex is a trademark of Phenomenex
ekspert is a trademark of Eksigent

YMC würdigt die Arbeit von Stephen Lock, AB SCIEX, Warrington (UK) zur Erstellung dieser Applikation.