



RESOLUTION OIV-OENO 578-2017

MONOGRAPHIE ÜBER SELEKTIVE PFLANZENFASERN

DIE GENERALVERSAMMLUNG,

GESTÜTZT auf Artikel 2 Absatz 2 iv des Übereinkommens vom 3. April 2001 zur Gründung der Internationalen Organisation für Rebe und Wein,

GESTÜTZT auf die Arbeiten der Sachverständigengruppe „Spezifikationen önologischer Erzeugnisse“,

GESTÜTZT auf die Arbeiten der Sachverständigengruppe „Technologie“ hinsichtlich des önologischen Verfahrens „Verwendung von selektiven Pflanzenfasern in Wein“,

BESCHLIESST, den internationalen önologischen Kodex durch folgende Monographie zu ergänzen:

SELEKTIVE PFLANZENFASERN

1. ZIEL, URSPRUNG UND ANWENDUNGSGEBIET

Selektive Pflanzenfasern stammen aus den essbaren Teilen gewisser Pflanzen, in der Regel Getreide. Die Pflanzenfasern werden aufeinanderfolgenden mechanischen Behandlungen und Extraktionsverfahren unterzogen. Dadurch wird eine Konzentration des Wirkstoffkomplexes ermöglicht, ohne dass die Struktur der Pflanzenfaser zerstört wird. Ziel dieser Behandlung ist die Erhöhung der Adsorptionskapazität.

Gewisse Pestizidrückstände, die im Wein möglicherweise vorhanden sind, und Ochratoxin A werden durch aktivierte Pflanzenfasern fixiert. Diese werden bei der Weinfiltration eingesetzt.

2. KENNZEICHNUNG

Das Etikett muss folgende Angaben enthalten:

- Name oder Verkehrsbezeichnung
- „Produkt für önologische Verwendungszwecke“
- Chargennummer und Verfalldatum
- Aufbewahrungsbedingungen
- Ursprung und Zusammensetzung der Fasern
- Name oder Firma des Herstellers
- Anschrift des Herstellers
- Nettomenge

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

3. EIGENSCHAFTEN

Das Erzeugnis ist unlöslich und liegt in Form eines braunen, sehr feinen Pulvers vor.

4. HAUPTMERKMALE

Der Gesamtgehalt der selektiven Pflanzenfasern an unlöslichen parietalen Verbindungen (Fraktion NDF) beträgt mindestens 90 % (m/m) und wird anhand der Methode nach Van Soest in Anhang 1 bestimmt.

5. VERSUCHE

5.1 Trocknungsverlust

5 g Produkt 15 Minuten bei 90°C in den Exsikkator geben. Der Gewichtsverlust darf 8 % des Ausgangsgewichts nicht überschreiten.

Nachfolgend festgelegte Grenzwerte beziehen sich auf das Trockenprodukt.

5.2 Asche

Den Rückstand aus dem Versuch zur Bestimmung des Trocknungsverlusts nach und nach veraschen, ohne 550 °C zu überschreiten.

Das Aschegewicht muss weniger als 1 % betragen.

5.3 In wässriger Lösung lösliche Produkte

10 g selektive Pflanzenfasern in einen 250 mL-Behälter geben, dann langsam 100 ml Wasser zugeben und von Hand schütteln, um eine homogene Suspension zu erhalten. Die selektiven Pflanzenfasern in einem Filter auffangen, den Filter mit destilliertem Wasser spülen, um die Rückstände aus den selektiven Pflanzenfasern aufzunehmen. Bei 45° C darf der Verlust an löslichen Produkten nach 48 Stunden 3 % des Ausgangsgewichts der Trockensubstanz nicht überschreiten.

5.4 Versuch zur Adsorption von Kontaminanten

5.4.1 Pestizide

Die Kapazität zur Adsorption (K_F) von 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid (Boscalid) einer selektiven Pflanzenfaser, die nach der Methode in Anhang 2 bestimmt wird, muss bei einer Dosis von 2 g/L selektive Pflanzenfasern höher oder gleich 1 000 mg/kg sein.

5.4.2 Ochratoxin A

Die Kapazität zur Adsorption (K_F) an Ochratoxine A (OTA) einer selektiven Pflanzenfaser, die nach der Methode in Anhang 3 bestimmt wird, muss bei einer Dosis von 2 g/L selektive Pflanzenfasern höher oder gleich 1 200 mg/kg sein.

5.5 Eisen

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Der Eisengehalt muss weniger als 100 mg/kg betragen.

5.6 Kupfer

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex

Der Kupfergehalt muss weniger als 25 mg/kg betragen.

5.7 Blei

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex

Der Bleigehalt muss weniger als 5 mg/kg betragen.

5.8 Quecksilber

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex

Der Quecksilbergehalt muss weniger als 1 mg/kg betragen.

5.9 Arsen

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex

Der Arsengehalt muss weniger als 1 mg/kg betragen.

5.10 Cadmium

Bestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex

Der Cadmiumgehalt muss weniger als 1 mg/kg betragen.

5.11 Salmonellen

Selektive Pflanzenfasern dürfen in 25 g Probenmaterial keine Salmonellen enthalten.

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

5.12 Bakteriologische Kontrolle

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

Der Gesamtgehalt an lebensfähigen Mikroorganismen muss weniger als 3×10^4 KBE/g enthalten.

5.13 Escherichia Coli

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

Der Nachweis des Nichtvorhandenseins von Escherichia coli muss an einer Probe von 1 g erfolgen.

5.14 Hefen

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Höchstgehalt: 10^3 KBE/g Präparat

5.15 Schimmel

Die Auszählung erfolgt nach der Methode in Kapitel II des Internationalen önologischen Kodex.

Höchstegehalt : 10^3 KBEC/g Präparat.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

ANHANG 1

1. Methode zur Analyse von unlöslichen parietalen Verbindungen (Fraktion NDF) nach Van Soest

1.1 Prinzip

Analyse der Bestandteile von Pflanzenzellwänden (Hemicellulose, Cellulose und Lignin) nach Solubilisierung der Proteine und Stärken durch Behandlung mit neutralem Reinigungsmittel (ND)

1.2 Material

1.2.1 Präzisionswaage 0,001 g

1.2.2 Trockenschrank

1.2.3 Ofen

1.2.4 Exsikkator

1.2.5 Filtertiegel (Porengröße 40- 100 µm)

1.2.6 Gerät des Typs Fibertec (oder gleichwertig): Es handelt sich um ein geschlossenes (halbautomatisches/automatisches) Gerät, das die gleichzeitige Bearbeitung von 6 Proben einschl. der Reagenzien ermöglicht und die Extraktionsphasen, die Erhitzung, Spülung und Filtration umfasst.

1.3 Reagenzien

1.3.1 Hitzebeständige α -Amylase, z.B. (Ref: A3306), Sigma Chemical Co.

1.3.2 Neutrale Reinigungslösung (NDS): für 5L Lösung:

- Natriumlaurylsulfat ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$, p. m.: 288,4) – 150 g
- Dinatrium-EDTA (Ethylendiamintetraacetat) ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, p. m. : 372,23) – 93,05 g
- Dinatriumtetraborat-Decahydrat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, p. m. : 381,37) – 34,05 g
- Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, p.m. : 177,99) – 22,8 g
- Triethylenglykol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$, p.m. : 150,17) – 50 mL

1.4 Durchführung

1.4.1 In neutralem Reinigungsmittel unlösliche Fasern

- Vorbereitung der Tiegel

Für jede Probe von Pflanzenmaterial 2 Tiegel vorbereiten:

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

(A) Tiegel zur Isolierung der unlöslichen Bestandteile (NDF)
2 g Pflanzenfaser in einen trockenen, sauberen Tiegel geben,

das Gewicht auf 0,001g genau notieren (W = Gewicht der Probe)

(B) Tiegel zur Bestimmung des Aschegehalts der Probe
2 g Pflanzenfaser in einen trockenen, sauberen Tiegel geben,

das Gewicht auf 0,001g genau notieren (W = Gewicht der Probe)

- Tiegel (in das System des Typs Fibertec) einlegen,
bei Umgebungstemperatur zu jeder Probe 100 mL NDS-Lösung (1.3.2) geben,

50 µl α-Amylase (1.3.1) zugeben,

in folgender Weise zum Kochen bringen und sieden lassen:

5-10 Minuten bis zum Sieden erhitzen; die Temperatur senken und gleich zu Siedebeginn Antischaummittel (z.B. Octansäure) zugeben. Die Temperatur einstellen, um die Siedetemperatur beizubehalten und 60 Minuten erhitzen.

Nach einstündiger Extraktion die Erhitzung stoppen und die NDS-Lösung anhand eines Absaugsystems entfernen.

- Spülung und Filtration
40 mL heißes Wasser (90-100°C) in jeden Tiegel geben und die Proben rühren/mischen und 2 Minuten ziehen lassen,

Vakuumfiltrieren,

den Vorgang vier Mal wiederholen.

In jeden Tiegel Aceton geben und 2 Minuten ziehen lassen, vakuumfiltrieren,

den Vorgang zwei Mal wiederholen.

- Die Tiegel entfernen
Tiegel (A) zwei Mal mit heißem Wasser (90-100 °C) spülen und 12 Stunden bei 105 °C in den Ofen stellen

Tiegel (B) bei 105 °C in den Ofen stellen, im Exikkator abkühlen lassen und wiegen (Erfassung des Gewichts W1)

(W1= Tiegel + ND-Fraktion + Gesamtasche (TA)).

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Anschließend drei Stunden bei 500 °C in den Ofen stellen, im Exikkator abkühlen lassen und wiegen (Erfassung des Gewichts W4)

(W4 = Tiegel + Gesamtasche (TA))

1.4.2 Bestimmung des Gehalts an Trockenmasse (DM)

Eine Schale auf 0,001 g genau wiegen (W_{DM})

2 g Pflanzenfasern auf 0,001 g genau in eine saubere, trockene Schale einwiegen (Erfassung des Gewichts W2)

(W2 = Gewicht vor der Trocknung)

Die Schale bei 105°C sechzehn Stunden in den Ofen stellen, im Exikkator abkühlen lassen und wiegen (Erfassung des Gewichts W3)

(W3= Gewicht nach der Trocknung)

1.5 Berechnungen

1.5.1 Bestimmung der Trockenmasse (DM)

$$\text{DM (\%)} = \frac{W3 - W_{DM}}{W2} \times 100$$

1.5.2 Bestimmung der unlöslichen Fraktion der Fasern im neutralen Reinigungsmittel „neutral detergent fiber“ (NDF)

$$\text{NDF (\%)} = \frac{(W1 - W4)}{\% \text{ DM}} \times 100$$
$$W \times \frac{100}{100}$$

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

ANHANG 2

2. Bestimmung der Kapazität von selektiven Pflanzenfasern zur Adsorption von Pflanzenschutzmitteln

2.1 Prinzip

Bei diesem Verfahren wird die Adsorptionfähigkeit selektiver Pflanzenfasern hinsichtlich eines Fungizids mit der Handelsbezeichnung BOSCALID bestimmt, das bei der Behandlung von Reben eingesetzt wird.

Chemische Bezeichnung IUPAC : 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid

Chemische Formel: C₁₈H₁₂CL₂ N₂O

CAS-Nr. : 188425-85-6

Die vorgeschlagene Methode nimmt Bezug auf die Bestimmung der Adsorptionsisothermen nach Freundlich.

2.2 Sicherheitsvorkehrungen

Pestizide sind potentiell toxisch und müssen unter Sicherheitsbedingungen gehandhabt werden, die Analytiker bei der Herstellung von Stammlösungen schützen, die anhand von reinen analytischen Standards gewonnen werden. Hände und Augen sind zu schützen, und es muss unter einer Abzugshaube gearbeitet werden.

2.3 Material

2.3.1 Übliche Laborglasgeräte: Messkolben, Pipetten, Flaschen

2.3.2 Präzisionswaage 0,001 g

2.3.3 Magnetrührer

2.3.4 Zentrifuge

2.4 Chemikalien

2.4.1 Analytischer Standard: 2-Chlor-N-(4'-chlorbiphenyl-2-yl)nicotinamid in Pulverform, Reinheit > 99%

2.4.2 Aceton für Rückstandsanalysen

2.4.3 Herstellung von 2-Chlor-N-(4'-chlorbiphenyl-2-yl)nicotinamid-Standardlösungen:

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

2.4.3.1 - Stammlösung 1000 mg/L 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid in Aceton: genau 50 mg reines Pulver des analytischen Standards in 50 ml Aceton geben. Die Stammlösung kann bei -20 °C höchstens ein Jahr aufbewahrt werden.

2.4.3.2 - Arbeitslösungen 100, 10 und 1 mg/L 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid in Aceton: durch schrittweise Verdünnungen der Stammlösungen in Aceton. Die Arbeitslösungen können bei -20 °C höchstens 6 Monate aufbewahrt werden.

2.5 Durchführung

Die Bedingungen für die Herstellung der Kontrollweine und Versuchsweine sind nachfolgend in Tabelle 1 zusammenfassend dargestellt.

2.5.1 Herstellung der Kontrollweine

Die Kontrollweine werden anhand eines pestizidfreien Weins hergestellt, zu dem 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid in 9 steigenden Konzentrationen gegeben wird, um beispielsweise 500 mL eines jeden dotierten Weins zu erhalten (siehe Tabelle 1). Die Zusätze erfolgen anhand der Standardarbeitslösungen (2.4.3.2). Für jede Konzentration werden zwei Wiederholungen vorgenommen. 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid wird dann in den 9 Kontrollweinen analysiert, um die gemessenen Ausgangskonzentrationen zu erhalten.

2.5.2 Herstellung der Versuchsweine

Die 9 mit dem Pestizid dotierten Weine (2.5.1) werden mit der selektiven Pflanzenfaser in Kontakt gebracht.

Durchführung:

0,4 g selektive Pflanzenfasern in wenig Kontrollwein geben, der mit 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid dotiert wurde; das Gemisch in einen 200 mL-Messkolben geben und mit diesem Wein bis zur Marke auffüllen (die Dosis an selektiven Pflanzenfasern beträgt 2 g/L).

Den Wein mit den selektiven Pflanzenfasern in einer geschlossenen Flasche 45 Minuten unter Rühren in Kontakt bringen. Bei 4500 Umdrehungen/Minute (3600 g) zentrifugieren, den Überstand vom Zentrifugat trennen und das im Überstand vorhandene 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid bestimmen, um die im Überstand gemessenen Restkonzentrationen zu erhalten. Dieser Vorgang wird für die 9 mit 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid dotierten Weine wiederholt (2.5.1). Für jede Konzentration werden zwei Wiederholungen vorgenommen.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Bedingungen für die Bestimmung der Kapazität zur Adsorption von 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Kontaktzeit	45 Minuten
Für die Versuche verwendeter Wein	Pestizidfreier Wein (vorherige Analyse)
Selektive Pflanzenfasern	Dosis 2g/L (Versuchsweine) Abwesenheit (Kontrollweine)
Untersuchte Pestizidverbindung	2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid (allgemeine Bezeichnung: Boscalid)
Konzentrationen der Dotierungen mit 2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid	5 µg/L 15 µg/L 30 µg/L 60 µg/L 120 µg/L 240 µg/L 480 µg/L 960 µg/L 1500 µg/L
Zahl der Wiederholungen	2
Zentrifugieren - Parameter	Umgebungstemperatur 4500 Umdrehungen/Minute (ca. 3600 g), 5 Minuten
Methode zur Rückstandsanalyse von 2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid	Bestimmung von Pestizidrückständen in Wein nach Extraktion anhand der QuEChERS-Methode (OIV-MA-AS323-08 - Typ II), dann Analyse der Extrakte mittels UPLC/MS/MS.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

2.6 Berechnungen

Die Kapazität zur Adsorption von 2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid wird nach der Gleichung nach Freundlich berechnet:

$$C_{Ads} = K_F * C_{Res}^{1/n}$$

oder nach der linearen Gleichung: $\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$

hierbei sind:

K_F = die Kapazität zur Adsorption der Verbindung durch die selektive Pflanzenfaser in $\mu\text{g/g}$ Faser

n = Affinität der selektiven Pflanzenfaser gegenüber der Verbindung

und:

- **CRes = Restkonzentration** von 2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid in $\mu\text{g/mL}$, die gemessen wird, nachdem der Wein mit den selektiven Pflanzenfasern in Kontakt gebracht wurde
- **CAds = adsorbierte Konzentration in $\mu\text{g/g}$ selektive Pflanzenfasern**
 - o C_{Ads} in $\mu\text{g/g} = C_{Ads}$ in $\mu\text{g/L} / 2$ (da Adsorptionsdosis = 2 g Faser/L Wein)
 - o **CAds in $\mu\text{g/L} = \text{Ausgangskonzentration in } \mu\text{g/L}$** (sie wird im dotierten Kontrollwein gemessen, bevor dieser mit den selektiven Pflanzenfasern in Kontakt gebracht wird)
– **CRes in $\mu\text{g/L}$**

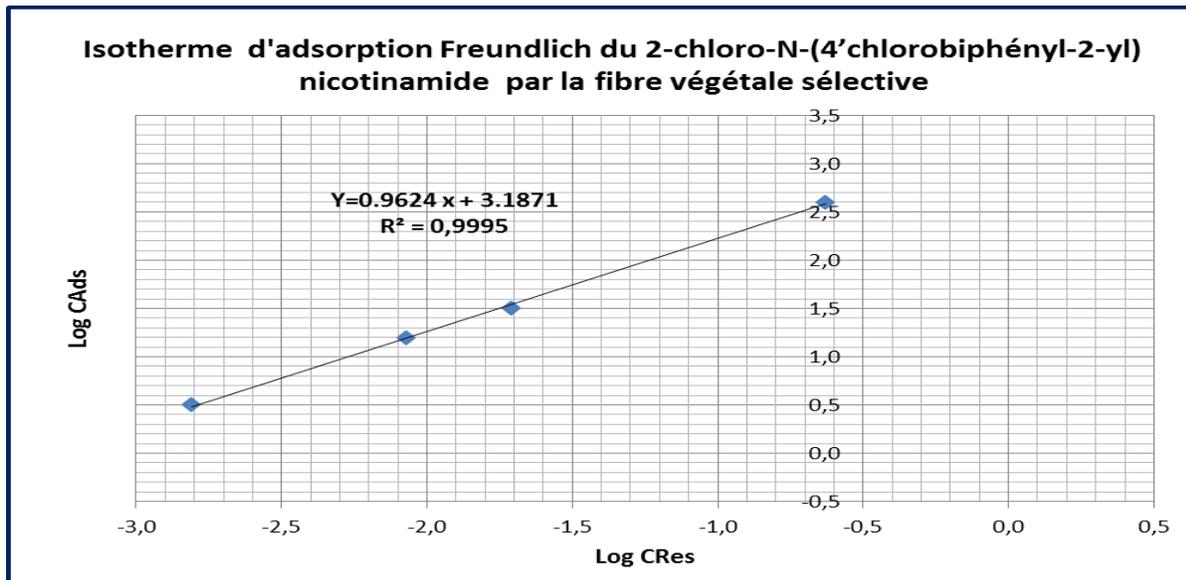
Anhand der gemessenen Restkonzentrationen ($\mu\text{g/L}$) werden die adsorbierten Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$) von 2-Chlor-N-(4'chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid für alle Ausgangskonzentrationen auf diese Weise berechnet, und es wird die Regressionsgerade **$\text{Log } C_a = 1/n \text{ Log } C_r + \text{Log } K$** gebildet.

Anhand der Regression der Adsorption (nach Freundlich) des Pestizids durch die Pflanzenfaser können auf diese Weise die beiden Freundlich-Konstanten berechnet werden: die Adsorptionskapazität in $\mu\text{g/g}$ (K_F) und die Affinität der Faser gegenüber dem Pestizid (n). Aus der Gleichung der Geraden $y = ax + b$ ergibt sich die Steigung $a = 1/n$ und $b = \text{Log } K_F$.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Beispiel: Isotherme nach Freundlich für 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl) nicotinamid



Adsorptionsisotherme nach Freundlich von 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid an selektiven Pflanzenfasern

In obigem Beispiel lassen sich daraus berechnen:

$b = \text{Log KF} = 3,1871$, d.h. $\text{KF} = 10^b = 1538,54$

und $a = 1/n = 0,9624$, d.h. $n = 1/a = 1,04$

Die Affinität (n) der selektiven Pflanzenfaser gegenüber 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid beträgt 1,04, und die Kapazität zur Adsorption (KF) von 2-Chlor-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamid der selektiven Pflanzenfaser beträgt 1538,54 $\mu\text{g/g}$ oder mg/kg Faser.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

ANHANG 3

3. Bestimmung der Kapazität selektiver Pflanzenfasern zur Adsorption von Ochratoxin A

3.1 Prinzip

Bei diesem Verfahren wird die Adsorptionskapazität selektiver Pflanzenfasern hinsichtlich eine Mykotoxins bestimmt:

Handelsbezeichnung: Ochratoxin A (OTA)

Chemische Bezeichnung IUPAC: N-[[[(3R)-5-Chlor-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-3,4-dihydro-1H-isochromen-7-yl] carbonyl]-L-phenylalanin

Chemische Formel: C₂₀H₁₈ClNO₆

CAS-Nr. 303-47-9

Die vorgeschlagene Methode nimmt Bezug auf die Bestimmung der Adsorptionsisothermen nach Freundlich.

3.2 Sicherheitsvorkehrungen

Ochratoxin A ist ein Toxin, das von der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC) als ein beim Menschen möglicherweise krebserregender Stoff in die Kategorie 2B eingestuft wurde. Es muss unter Sicherheitsbedingungen gehandhabt werden, die Analytiker bei der Herstellung von Stammlösungen schützen, die anhand von reinen analytischen Standards gewonnen werden. Hände und Augen sind zu schützen, und es muss unter einer Abzugshaube gearbeitet werden.

3.3 Material

3.3.1 Übliche Laborglasgeräte: Messkolben, Pipetten, Flaschen

3.3.2 Präzisionswaage 0,001 g

3.3.3 Magnetrührer

3.3.4 Zentrifuge

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

3.4 Chemikalien

3.4.1 Analytischer Standard Ochratoxin A (OTA) in Pulverform, Reinheit > 99 %

3.4.2 Toluol, Methanol und reines Ethanol (HPLC-Qualität)

3.4.3 Natriumacetat-Puffer, pH 5,2 (0,1 mol/L): 13,061 g Natriumacetat-Trihydrat in 900 ml Wasser lösen. Den pH-Wert mit Essigsäure auf 5,2 einstellen, dann mit destilliertem Wasser auf 1 000 mL auffüllen.

3.4.4 Herstellung der Ochratoxin A-Standardlösungen:

3.4.4.1 - Stammlösung (50 mg/L) in Gemisch aus Toluol und Essigsäure: genau 5 mg reines Ochratoxin (3.4.1) in 100 mL des Gemischs aus Toluol und Essigsäure lösen (99 :1 , v/v). Die Stammlösung kann bei einer Temperatur von -20 °C höchstens 1 Jahr aufbewahrt werden.

3.4.4.2 - Arbeitslösung (20 mg/L) in Methanol: einen aliquoten Teil (20 mL) Stammlösung im Stickstoffstrom verdampfen, dann in 50 mL reinem Methanol erneut lösen. Die Arbeitslösung kann bei einer Temperatur von -20 °C höchstens 6 Monate aufbewahrt werden.

3.4.4.3 - Dotierungslösungen (10, 5 und 2 mg/L in Ethanol: schrittweise Verdünnungen der Arbeitslösung in reinem Ethanol vornehmen. Die Dotierungslösungen können bei einer Temperatur von -20 °C höchstens 2 Monate aufbewahrt werden.

3.5 Durchführung

Die Bedingungen für die Herstellung der Kontrolllösungen und Versuchslösungen sind in Tabelle 2 zusammenfassend dargestellt.

3.5.1 Herstellung der Kontrolllösungen

Die Kontrollweine werden anhand eines Natriumacetat-Puffers mit einem pH-Wert von 5,2 (3.4.3) hergestellt, zu dem Ochratoxin A in 9 steigenden Konzentrationen gegeben wird, um beispielsweise 500 mL eines jeden dotierten Weins zu erhalten (siehe Tabelle 2). Die Zusätze erfolgen anhand der Dotierungslösungen (3.4.4.3). Für jede Konzentration werden zwei Wiederholungen vorgenommen. Ochratoxin A wird dann in den 9 Kontrollweinen analysiert, um die gemessenen Ausgangskonzentrationen zu erhalten.

3.5.2 Herstellung der Versuchslösungen

Die 9 mit OTA dotierten Lösungen (3.5.1) werden mit der Pflanzenfaser in Kontakt gebracht.

Durchführung :

0,05 g selektive Pflanzenfasern in wenig Natriumacetat-Puffer (pH-Wert 5,2) geben, der mit OTA dotiert wurde; das Gemisch in einen 25 mL-Messkolben geben und mit dieser Pufferlösung bis zur Marke auffüllen

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

(die Dosis an selektiven Pflanzenfasern beträgt 2 g/L). 45 Minuten unter Rühren mit den Pflanzenfasern in Kontakt bringen, die Suspensionen dann zentrifugieren und den Überstand vom Faserrückstand trennen. Dieser Vorgang wird für die 9 mit Ochratoxin A dotierten Kontrolllösungen (3.5.1) wiederholt. Das Ochratoxin A wird dann mittels HPLC bestimmt, um die im Überstand gemessenen Restkonzentrationen zu erhalten. Für jede Konzentration werden zwei Wiederholungen vorgenommen.

Tabelle 2 – Zusammenfassung der Bedingungen für die Bestimmung der Kapazität zur Adsorption von OTA

Kontaktzeit	45 Minuten
Für die Versuche verwendeter Puffer	Natriumacetat (pH 5,2)
Selektive Pflanzenfasern	Dosis 2g/L (Versuchslösungen) Abwesenheit (Kontrolllösungen)
Konzentrationen der Dotierung mit Ochratoxin A	2 µg/L 5 µg/L 20 µg/L 125 µg/L 450 µg/L 900 µg/L 2 000 µg/L 5 000 µg/L 10 000 µg/L
Zahl der Wiederholungen	2
Zentrifugieren - Parameter	Umgebungstemperatur 10000 Umdrehungen/Minute (ca. 13000 g) 2,3 Minuten
Analysemethode zur Bestimmung von Ochratoxin A	Bestimmung von Ochratoxin A in Wein mittels Immunaффinitätssäule (OIV-MA-AS315-10) und anschließender HPLC-Analyse mit Fluoreszenzdetektion

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

3.6 Berechnungen

Die Kapazität zur Adsorption von Ochratoxin A wird nach der Gleichung nach Freundlich berechnet:

$$C_{Ads} = K_F * C_{Res}^{1/n}$$

oder nach der linearen Gleichung: $\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$

Hierbei sind:

K_F = Kapazität zur Adsorption der Verbindung durch die selektive Pflanzenfaser in $\mu\text{g/g}$ Faser

n = Affinität der Pflanzenfaser gegenüber der Verbindung

und:

- **C_{Res} = Restkonzentration von Ochratoxin A in $\mu\text{g/mL}$** , die in der Versuchslösung gemessen wird, nachdem diese mit den selektiven Pflanzenfasern in Kontakt gebracht wurde
- **C_{Ads} = adsorbierte Konzentration in $\mu\text{g/g}$ selektiven Pflanzenfasern**
 - o C_{Ads} in $\mu\text{g/g} = C_{Ads}$ in $\mu\text{g/L} / 2$ (da Adsorptionsdosis = 2 g Faser/L Pufferlösung)
 - o **C_{Ads} in $\mu\text{g/L} = \text{Ausgangskonzentration in } \mu\text{g/L}$** (sie wird in der Pufferlösung gemessen, bevor diese mit den selektiven Pflanzenfasern in Kontakt gebracht wird) – **C_{Res} in $\mu\text{g/L}$**

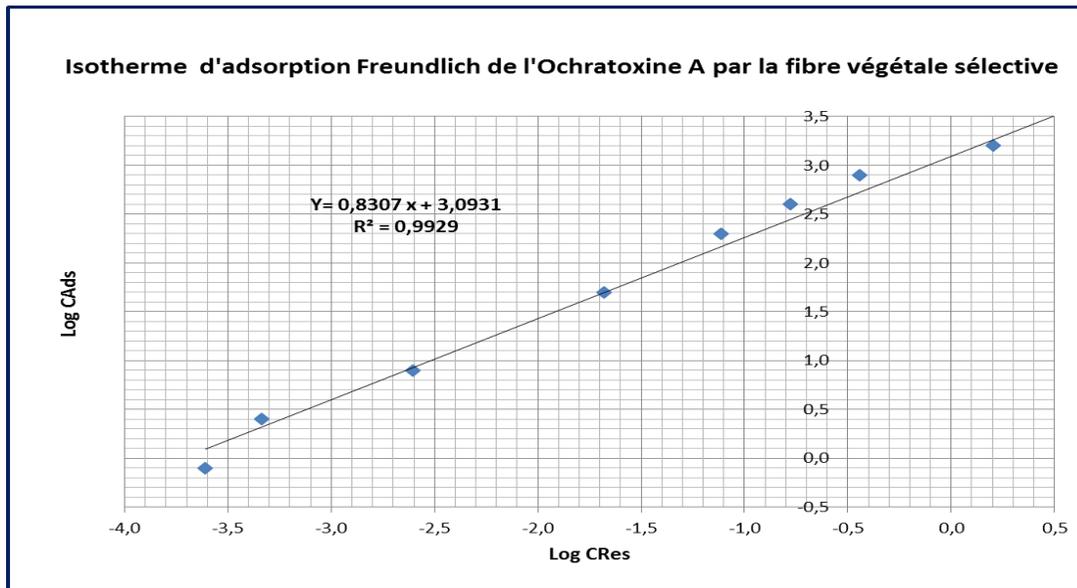
Anhand der gemessenen Restkonzentrationen ($\mu\text{g/L}$) werden die adsorbierten Ochratoxin A-Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$) für alle Ausgangskonzentrationen auf diese Weise berechnet, und es wird die Regressionsgerade **$\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$** gebildet.

Anhand der Regression der Adsorption (nach Freundlich) von Ochratoxin A durch die Pflanzenfaser können auf diese Weise die beiden Freundlich-Konstanten berechnet werden: die Adsorptionskapazität in $\mu\text{g/g}$ (K_F) und die Affinität der Faser gegenüber Ochratoxin A (n). Aus der Gleichung der Geraden $y = ax + b$ ergibt sich die Steigung $a = 1/n$ und $b = \text{Log } K_F$.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND

Beispiel: Isotherme nach Freundlich für l'Ochratoxin A



**Adsorptionsisotherme nach Freundlich von Ochratoxin A
an selektiven Pflanzenfasern**

In obigem Beispiel lassen sich daraus berechnen:

$b = \text{Log KF} = 3,0931$ soit $\text{KF} = 10^b = 1239,21$

und $a = 1/n = 0,8307$ soit $n = 1/a = 1,2$

Die Affinität (n) der selektiven Pflanzenfaser gegenüber Ochratoxin A beträgt 1,2, und die Kapazität zur Adsorption (KF) von Ochratoxin A der selektiven Pflanzenfaser beträgt 1239,21 oder mg/kg Faser.

*Beglaubigte Ausführung
Sofia, den 2. Juni 2017
Der Generaldirektor der OIV
Sekretär der Generalversammlung*

Jean-Marie AURAND