

Kohlendioxid-Überdruck - Zur Anwendung der EWG-Referenzmethode und der gebräuchlichen Methode in der Überwachungspraxis

CLAUS SCHLICHT

Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern
D-85764 Oberschleißheim, Veterinärstraße 2

Durch das Verknüpfen von gebräuchlicher Methode und EWG-Referenzmethode ist es möglich, an ein und derselben Probe zwei unterschiedliche Bestimmungen des Kohlensäure-Überdruckes durchzuführen. Nach unserer Auffassung ist das hier beschriebene Verfahren trotz des erhöhten Zeitaufwandes geeignet, in den Routinebetrieb aufgenommen zu werden, da das Temperieren, kontrollierte Einfrieren, Öffnen und Verschließen am Vortag ohne großen Aufwand in den normalen Laborablauf integriert werden kann. Bei unauffälligen Proben kann das Verfahren nach der ersten (direkten) Druckmessung abgebrochen und können weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Bei den übrigen Proben ist jedoch sofort eine zweite Druckbestimmung nach einem von der ersten Messung unabhängigen Prinzip möglich. Dies ist bei Erzeugnissen, deren Werte sogar innerhalb einer Charge großen Schwankungen unterliegen können, für die Absicherung ein großer Vorteil.

Carbon dioxide pressure - Employment of the EWG-reference method and the "usual" method in controlling routines. *By combining the "usual" and the EWG-reference method it is possible to carry out two measurements of the carbon dioxide pressure in one and the same sample and therefore to get a value, which has been determined twice. In our opinion it is possible to apply the described combined determination as a routine method without an increased expenditure of time, because tempering, controlled freezing, opening and closing can easily be integrated into normal laboratory routine. With values determined within an expected range it is possible to stop pressure examination after the direct measurement and to examine other parameters. With other samples a second measurement can be carried out immediately. Furthermore it is an advantage to have two analytic methods based on two independent principles, especially with products which might show widely varying values even within one batch.*

La suppression de dioxyde de carbone - application de la méthode de référence CEE et de la méthode habituelle dans la surveillance pratique. *La combinaison de la méthode habituelle et de la méthode de référence CEE permet de déterminer la suppression de dioxyde de carbone d'un seul échantillon par deux voies différentes. À notre avis, la méthode décrite ici peut être intégrée au travail de routine bien qu'elle réclame davantage de temps, étant donné que l'équilibrage de température, le gel contrôlé, l'ouverture et la fermeture devant être effectués la veille ne nécessitent pas beaucoup de travail et peuvent être intégrés aux activités normales d'un laboratoire. Pour des échantillons ne présentant pas de particularités, la procédure peut être interrompue après le premier mesurage (direct) de la pression, et d'autres essais peuvent être effectués. En revanche, la pression des autres échantillons peut être déterminée immédiatement après, une seconde fois, selon un principe indépendant du premier mesurage. Cela présente un grand avantage du point de vue sûreté des résultats pour des produits dont la pression peut fortement varier, même à l'intérieur de la même charge.*

Als Unterscheidungskriterium zwischen Perlwein, Schaumwein, Qualitätsschaumwein und Qualitätsschaumwein b. A. ist in den Rechtsvorschriften (1, 2) u. a. der auf gelöstes Kohlendioxid zurückzuführende

Überdruck bei 20 °C aufgeführt. Während dieser bei Perlwein und Perlwein mit zugesetzter Kohlensäure zwischen 1 und 2,5 bar liegen muss, ist bei Schaumwein und Schaumwein mit zugesetzter Kohlensäure

ein Überdruck von mindestens 3 bar vorgeschrieben (1). Darüber hinaus gilt für Qualitätsschaumwein und Qualitätsschaumwein b. A. bei einem Flaschenvolumen von mehr als 25 cl ein Minimum von 3,5 bar (vgl. hierzu Art.15 Abs. 2 der V(EWG) Nr. 2332/92) (2). Somit dient der auf gelöstes Kohlendioxid zurückzuführende Überdruck also nicht nur der Abgrenzung zwischen Perl- und Schaumwein (welche z. B. für den Zoll zur Ermittlung der sog. „Sektsteuer“ wichtig ist), sondern er trägt auch u. a. dazu bei, durch den erhöhten Mindestwert Qualitätsschaumweine und Qualitätsschaumweine b. A. vom Schaumwein abzugrenzen. Zur Bestimmung des Kohlendioxid-Überdruckes werden bei Perl- und Schaumweinen derzeit zwei Methoden eingesetzt, die EWG-Referenzmethode einerseits, und die in der Routine überwiegend verwendete „gebräuchliche“ Methode andererseits. Auf Grund des Messprinzips oder der Methodenvorbereitung ist bei ein und derselben Flasche mit den genannten Methoden zwar eine Wiederholung der Messung, nicht jedoch eine weitere unabhängige Bestimmung des Überdruckes durchführbar. Da in der Überwachung für die Untersuchungen in der Regel aber nur ein bis zwei Flaschen zur Verfügung stehen, ist für die Absicherung der Druckbestimmung die Zweitflasche (sofern überhaupt vorhanden) zu verwenden, was oft nur auf Kosten anderer Untersuchungen geht. Eine Doppelbestimmung, wie sie insbesondere bei Proben im Grenzbereich zwischen 2,5 und 3,0 bar (einfach ausgedrückt: die Unterscheidung zwischen „Noch-Perlwein“ und „Schon-Schaumwein“) notwendig wäre, war daher häufig nicht möglich. Außerdem scheidet die Möglichkeit, den Analysenbefund anhand von Zweit- oder Nachproben zu bestätigen, vielfach aus, da bei der Herstellung von kohlendioxidhaltigen Weinen die Flaschen aus ein und derselben Charge auf Grund der Technologie (Stichworte: Fülldosage, Nachgärung, Lagereinflüsse, etc.) auch bei der Tankgärung Unterschiede im Kohlendioxid-Überdruck aufweisen können (vgl. Tab. 1). Bei auffälligen Proben existiert demnach häufig nur ein Analysenwert, nämlich der der EWG-Referenzmethode oder der der „gebräuchlichen“ Methode. Da der „analytische Fehler“ der EWG-Referenzmethode in der Literatur noch nicht beschrieben wurde, muss bei der Auswertung der Ergebnisse eine relativ große Sicherheitsspanne (z.B. Zolltoleranz) berücksichtigt werden, was zur Folge hat, dass Proben im Grenzbereich zwischen 2,5 und 3,0 bar manchmal nicht mehr eindeutig differenziert werden können.

Auch im Falle der gebräuchlichen Methode ist die Analysengenauigkeit für gesicherte Beurteilungen oft zu gering. Schließlich ist es für die Routineuntersuchung auch noch wichtig, eine schnelle und einfache (Screening-)Methode zu besitzen, in der man vorher entscheiden kann, ob sich eine aufwändige Untersuchung der Probe mit der Referenzmethode lohnt oder ob eine Prüfung auf andere (auffällige) Inhaltsstoffe vorzuziehen ist. Bei der bisher verwendeten „gebräuchlichen Methode“ mittels Afrometer (z.B. mit Hohnadeln oder mit Quetschdichtungen), bei der der Verschluss der Flasche zerstört oder entfernt wird, ist zwar dieser Vorteil vorhanden. Wie aber bereits erwähnt, ist auf Grund des Messprinzips und der Empfindlichkeit des Messinstruments (das Einfrieren des Messaufsatzes mit Afrometer ist nicht zu empfehlen) keine zweite Bestimmung mehr durchführbar. Weil es mit den üblichen Messaufsätzen nicht möglich ist, ein druckverlustfreies Entfernen des Verschlusses zu gewährleisten, war auch eine Wiederholung der Druckbestimmung mittels EWG-Referenzmethode ausgeschlossen. Unabhängig davon besteht bei der Bestimmung mit Hohnadeln immer die Gefahr, durch das Einschlagen der Nadel das Gasvolumen über der Flüssigkeit zu komprimieren, was wiederum einen zu hohen auf gelöstes Kohlendioxid zurückzuführenden Überdruck vortäuscht. Es lag daher nahe, eine Analysenvorschrift für die Routine zu erarbeiten, bei der eine Bestimmung des Kohlendioxid-Überdruckes nach verschiedenen Verfahren aus einer Probenflasche durchführbar ist. Es zeigte sich, dass durch eine bestimmte Kombination der EWG-Referenzmethode mit der „gebräuchlichen“ Methode eine schnelle und hinreichend genaue Untersuchung mittels Afrometer möglich ist, die bei auffälligen Proben mit Hilfe der Titration wiederholt und damit abgesichert werden kann.

Material und Methoden

In der Literatur (3) sind bereits beide hier aufgeführten Methoden („gebräuchliche“ und „EWG-Referenzmethode“) beschrieben. Da die vorliegende Arbeit insbesondere die Verknüpfung zweier voneinander unabhängiger Analysenmethoden darstellen möchte, werden sowohl die „gebräuchliche“ als auch die „EWG-Referenzmethode“ im Einzelnen nochmals beschrieben.

Prinzip der Methoden

Referenzmethode

Die Probe wird vor dem Öffnen bis zum Gefrierpunkt gekühlt. Nach der Entnahme einer bestimmten Menge für den Blindwert bindet man in der übrigen Probe die Kohlensäure durch Alkalisieren in Form von Natriumcarbonat. Man titriert mit einer Säure in Gegenwart von Carbo-Anhydrase. Der Gehalt an Kohlendioxid errechnet sich aus der zur Titration von pH-Wert 8,6 (Bikarbonat) auf pH-Wert 4,0 (Kohlensäure) benötigten Menge an Säure unter Berücksichtigung des Leerwertes (von Kohlendioxid befreiter Wein).

Gebräuchliche Methode

Druckmessung: direkte Messung des Überdruckes in der Flasche, z. B. mit einem Afrometer

Geräte

- Dosimeter mit Magnetrührer
- pH-Messgerät
- Gefriereinrichtung (z.B. Gefrierschrank, -truhe)
- unterschiedlich große Messzylinder
- Druckmessgerät * (z.B. der Fa. DRUCK LIMITED, Leicester England, Modell N° DPI 260)
- drucksicherer Schnellverschluss* (z.B. der Fa. WALTHER PRÄZISION, Wuppertal (Typ NW6))
fest verschraubt mit je einer
- Schließeinrichtung* (z.B. der Fa. BARBY + KÜHNER, Untersiemau (z.B. Durchmesser 17,5 bzw. 18,5 oder 19,5 mm))
- Jodzahlkolben mit Rückflusskühler
- Stoppuhr, temperierbares Wasserbad, Pyknometer mit Destillationsapparatur
- Waage

Chemikalien

- Natronlauge (NaOH), 50 % (g/g)
- Schwefelsäure (H₂SO₄), 0,05 M
- Carbo-Anhydrase, 1 g/l
- alkalische Kupfersulfat-Lösung (vgl. Luff-Schoorl)

Durchführung der Bestimmung

Die zu analysierende Probe wird auf 20 °C temperiert. Anschließend wird die Füllhöhe (für die Ermittlung des Ausgangsvolumens „V“) markiert, danach wird die Probe bis zum Beginn des Gefrierens (Anfang der Eiskristallbildung) gekühlt. Die Flasche wird

nun schnell entkorkt und sofort mit der bereitgelegten Schließvorrichtung verschlossen. Nach dem Temperieren auf 20 °C im Wasserbad wird gut geschüttelt und bei konstantem Wert der vorhandene Überdruck am Manometer abgelesen. Sofern der Überdruck nicht die notwendige Anforderung erfüllt, wird die Flasche bei geschlossenem Verschluss abgekoppelt und erneut - wie oben beschrieben - gekühlt. Die weitere Durchführung ist dann mit der sog. „EWG-Referenzmethode“ (3) identisch: Die Flasche wird unter Schütteln langsam erwärmt, bis sich die Eiskristalle auflösen. Man entfernt nun schnell den Verschluss und gibt 45 bis 50 ml des Inhalts zur Bestimmung des Leerwertes in einen graduierten Messzylinder. Das exakte Volumen „v“ wird später am Messzylinder abgelesen, nachdem die Probe wiederum auf 20 °C temperiert wurde. Zunächst wird jedoch die restliche Probe zum Fixieren des Kohlendioxids alkalisiert. Dazu werden zum Flascheninhalt direkt im Anschluss an die Probenahme für den Leerwert 20 ml der 50 % igen Natronlauge zugegeben. Man wartet, bis die Probe Zimmertemperatur angenommen hat und gibt in ein 100 ml-Becherglas 30 ml ausgekochtes, destilliertes Wasser, 2 Tropfen Carbo-Anhydrase-Lösung sowie 10 ml des alkalisierten Weines. Sodann werden ein Magnetstäbchen in das Becherglas gegeben, das Glas auf einen Magnetrührer gestellt und die pH-Elektrode eingetaucht. Unter Rühren fügt man langsam 0,05 M Schwefelsäure bis zum pH-Wert 8,6 zu. Danach werden weiter 0,05 M Schwefelsäure bis zum pH-Wert 4,0 zugegeben. Der zwischen pH-Wert 8,6 und pH-Wert 4,0 benötigte Verbrauch „n“ in Milliliter 0,05 M Schwefelsäure wird festgehalten. Leerwert: 45 bis 50 ml Wein werden durch etwa dreiminütiges Schütteln an der Wasserstrahlpumpe auf dem Wasserbad bei 25 °C von der Kohlensäure befreit. Zu 10 ml der so entcarbonisierten Probe werden 30 ml ausgekochtes Wasser gegeben und zwei bis drei Tropfen Natronlauge zugefügt, um die Lösung auf einen pH-Wert von 10 bis 11 zu bringen. Dann verfährt man weiter wie oben beschrieben. Registriert wird der zwischen pH-Wert 8,6 und pH-Wert 4,0 benötigte Verbrauch „n“ in Milliliter 0,05 M Schwefelsäure. Zuletzt wird das Ausgangsvolumen („V“) in ml (auf 1 ml genau) bestimmt, indem man die Flasche leert und anschließend mit Wasser wieder bis zur Markierung füllt.

Durch die mit * gekennzeichneten Geräte ist ein druckverlustfreies An- und Abkoppeln des Messgerätes vom Verschluss möglich. Die Flasche samt Aufsatz kann somit ohne Gefährdung des Messgerätes erneut eingefroren werden.

Berechnung der Ergebnisse

1 ml 0,05 M Schwefelsäure = 4,4 mg CO₂

$$\text{g/l CO}_2 = 0,44 (n - n') \times \frac{V - v + 20}{V - v}$$

Der Gehalt an CO₂ wird mit zwei Dezimalen angegeben.

Berechnung des Überdruckes

Der Überdruck bei 20 °C P_{aph20} ausgedrückt in Pascal ist gegeben durch die Formel

$$P_{\text{aph20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01 A) (1 - 0,00144 Z)} - P_{\text{atm}}$$

mit:

Q: CO₂-Gehalt des Weines in g/l

A: Alkoholgehalt des Weines in % vol.

Z: Zuckergehalt des Weines in g/l

P_{atm}: Atmosphärendruck, ausgedrückt in Pascal

Versuchsreihen zur Validierung des beschriebenen Verfahrens

Dadurch, dass die Probe in gekühltem Zustand entkorkt und mit dem Druckaufsatz wieder dicht verschlossen wird, ist sichergestellt, dass die Kohlensäure ohne Verluste in der Probe gelöst bleibt (Tab. 1). Dies zeigt sich bei der Messung einer Serie von Schaumweinen mit einem fest eingestellten Kohlensäure-Überdruck von 5,5 bar. Die Abweichungen zwischen den Messungen schwanken dabei im Einzelnen zwischen -0,29 und +0,24 bar, im Mittel jedoch nur um einen Wert von 0,06 bar. Nebenbei wurde in den elf Flaschen der untersuchten Charge ein durchschnittlicher Überdruck von 5,30 bar mit einer Schwankung von ± 0,24 bar ermittelt (Tab. 1).

Nach der Messung mit der „gebräuchlichen Methode“ wurde in der gleichen Serie jeweils der Überdruck mit Hilfe der „EWG-Referenzmethode“ chemisch bestimmt. Es resultierte daraus ein durchschnittlicher Wert von 5,36 bar bei einer Schwankung von ± 0,20 bar (Tab. 1 und Abb. 1). Daraus ist ersichtlich, dass durch die beschriebene Vorgehensweise die Kohlensäure nicht nur ohne Verluste in der Probe gelöst bleibt, sondern dass die durchschnittliche Abweichung der beiden hier beschriebenen Messungen (hier: Δ p = 0,06 bar) innerhalb der analytischen Schwankung (Standardabweichung) der einzelnen Methode liegt (Tab. 1). Das Gleiche gilt für die Standardabweichung der Messun-

Tabelle 1:
Untersuchung einer Charge Sekt

Probe:	Druck Gebräuchli- che Methode (bar)	Druck EWG- Referenz- Methode (bar)	Differenz zwischen beiden Methoden (bar)
Sekt 1	5,58	5,47	-0,11
Sekt 2	5,43	5,14	-0,29
Sekt 3	5,34	5,52	0,18
Sekt 4	5,35	5,59	0,24
Sekt 5	5,51	5,43	-0,08
Sekt 6	5,21	5,40	0,19
Sekt 7	5,48	5,48	0,00
Sekt 8	5,33	5,46	0,13
Sekt 9	5,38	5,41	0,02
Sekt 10	4,73	4,84	0,11
Sekt 11	4,99	5,23	0,24
Mittelwert	5,30	5,36	0,06
Standardab- weichung	0,24	0,20	0,16

terschiede (Differenz). Sie liegt mit ± 0,16 bar innerhalb der Standardabweichung der einzelnen Methoden (EWG-Referenz: ± 0,20 bar; „gebräuchliche Methode“: ± 0,24 bar) und wird somit von diesen mit eingeschlossen (Tab. 1 und Abb. 2).

Dass die so erhaltenen Werte absolut miteinander vergleichbar sind, zeigen auch Untersuchungen von Perl- und Schaumweinen aus dem Handel, welche ebenfalls nach dem oben beschriebenen Verfahren untersucht wurden (Abb. 3). Die Unterschiede zwischen Manometerwert und chemischem Wert lagen im Mittel bei ± 0,15 bar, wobei die Schwankungsbreite (Δ p) hier in der Regel zwischen -0,22 bar und +0,32 bar liegt (Abb. 4). Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen zeigt sich also, dass die Druckmessungen der beiden beschriebenen Methoden, welche bisher nur unabhängig voneinander durchgeführt werden konnten, gut miteinander verknüpfbar sind. Die Schwankung der reproduzierbaren Messergebnisse liegt innerhalb der Schwankungsbreite der Einzelmessungen. Folglich können sich die durch das hier beschriebene Verfahren erhaltenen Messwerte gegenseitig stützen. Für die behördliche, aber auch für die betriebliche Kontrolle stellt dies eine zusätzliche Absicherung bei der Beurteilung von Werten dar.

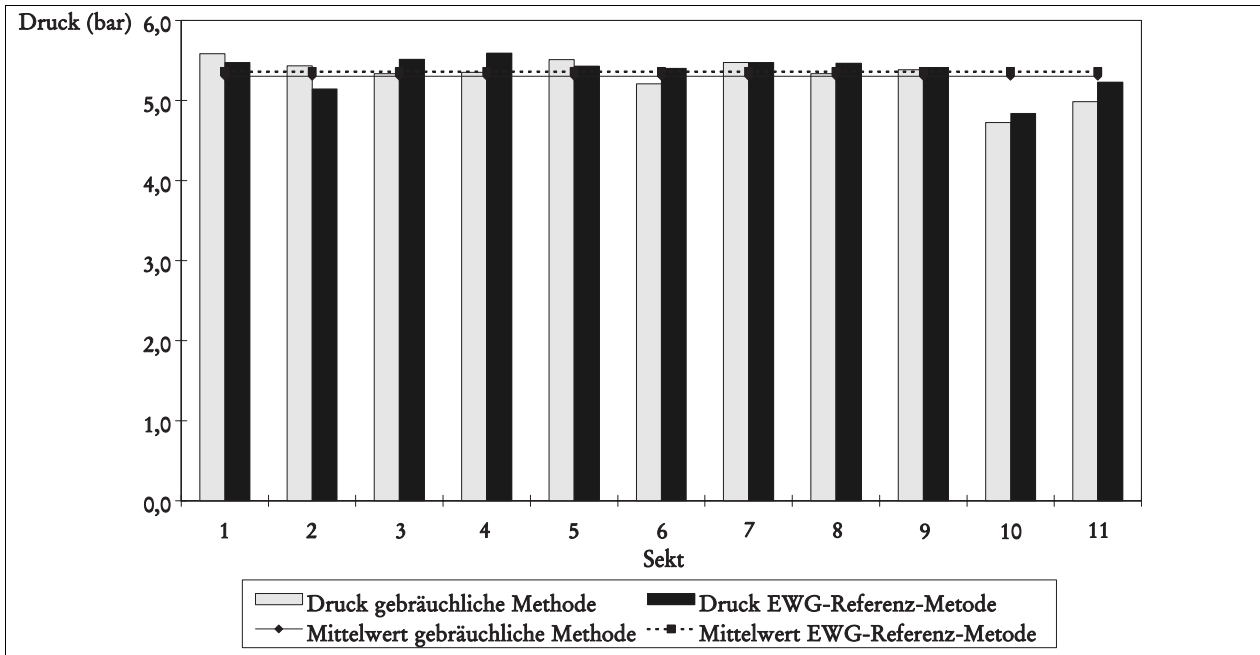


Abb. 1: Vergleichende Bestimmung des Überdruckes bei ein und derselben Charge Sekt

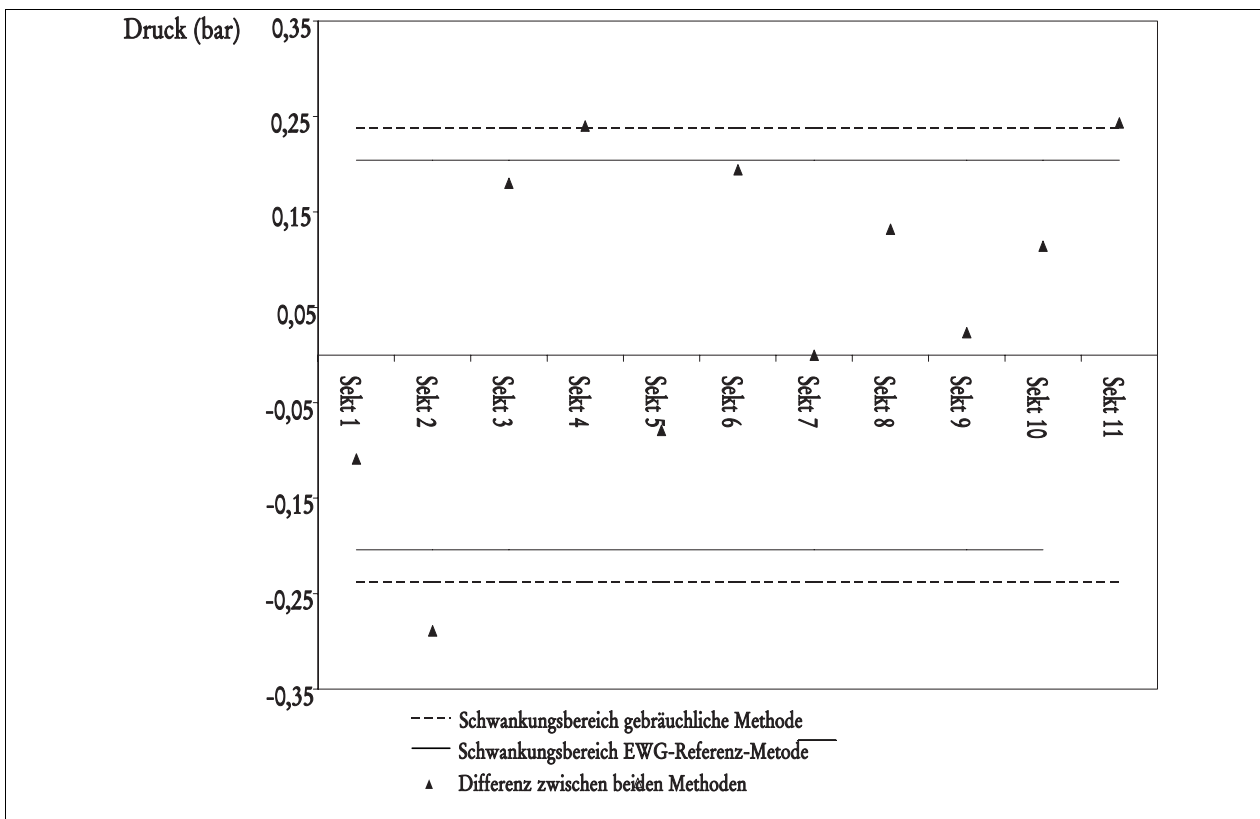


Abb. 2: Differenz Druckwerte von „gebräuchlicher Methode“ und „EWG-Referenzmethode“ bei einer Charge Sekt

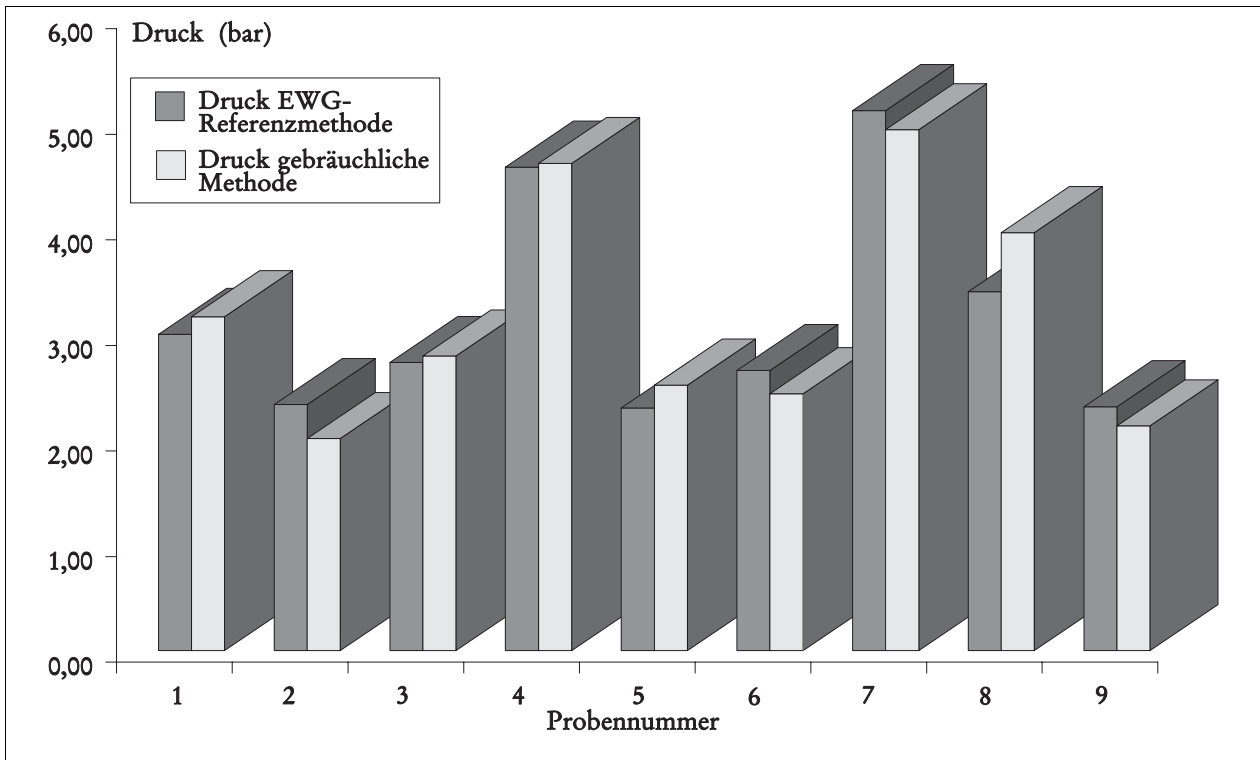


Abb. 3: Vergleichende Druckbestimmung bei handelsüblichen Proben

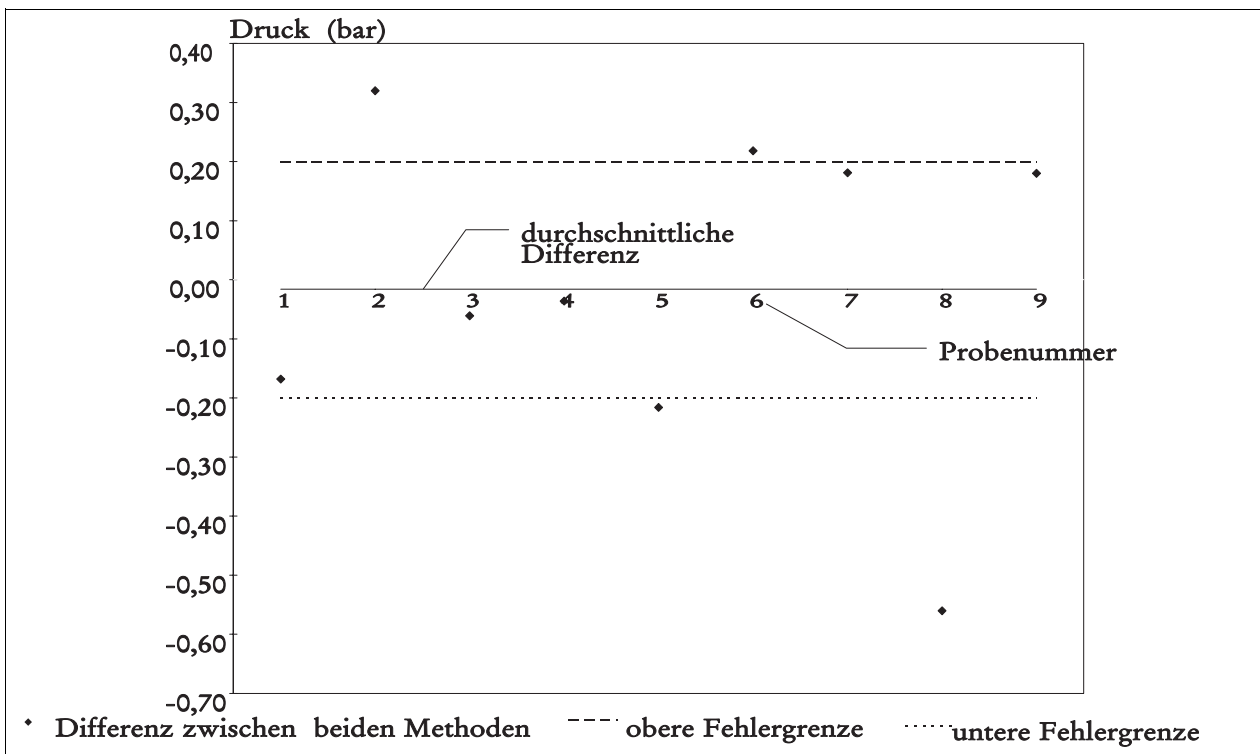


Abb. 4: Differenz von Druckwerten bei „gebräuchlicher Methode“ und „EWG-Referenzmethode“ in handelsüblichen Proben

Diskussion

Mit dem beschriebenen Verfahren ist es möglich, mit voneinander unabhängigen Methoden zwei Druckbestimmungen an ein und derselben Probe (Flasche) durchzuführen. Bisher wird vermutlich wegen der teilweisen erheblichen Druckunterschiede innerhalb einer Charge von der Angabe der Analysentoleranz und der Vergleichbarkeit abgesehen, obwohl die Methoden in den gemeinsamen Analysenmethoden für den Weinsektor (3) mit aufgeführt sind und für die Qualitätssicherung die Angaben von Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit üblich sind. Durch die Verknüpfung der „gebräuchlichen“ (Manometer-) mit der EWG-Referenz (Titration)-Methode ist es aber möglich, zwei Bestimmungen durchzuführen, die sich vom Messprinzip her unterscheiden. Es können deshalb die Werte der beiden beschriebenen Methoden direkt miteinander verglichen werden. Folglich sind Aussagen über Abweichungen, Toleranzen, Wieder-

holbarkeit und Vergleichbarkeit möglich. Diese sollten auch Eingang in die Routine der Betriebsführung und der Weinkontrolle bzw. Lebensmittelüberwachung finden.

Für die gewissenhafte Durchführung der analytischen Arbeiten danken wir Frau MARIA-ANNA SEEHOLZER und Frau SYLVIA GRADER.

Literatur

- (1) EWG-Verordnung Nr. 822/87, Anhang I, Nr. 15 - 18
- (2) EWG-Verordnung Nr. 2332/92, Art 15, Abs. 2
- (3) EWG-Verordnung Nr. 2676/90, Anhang Nr. 37
Bedienungsanleitung des Druckmessgerätes

Manuskript eingelangt am 31. Jänner 2000