

# **ANALYTISCHE METHODEN ZUR BESTIMMUNG FLÜCHTIGER VERBINDUNGEN IN WEIN**

**LAUBENBACHER Susanne, Hintz Beate, Leitner Erich**

*Institut für Lebensmittelchemie und Technologie, Technische Universität Graz*

*Petersgasse 12/2, 8010 Graz, Österreich*

**SCHLÜSSELWÖRTER:** Wein, Analytik, SPME, GC-MS, Aroma

## ZUSAMMENFASSUNG

Die durchgeführte Arbeit ist Teil eines dreijährigen Projektes, wobei Weine der Sorte Blaufränkisch und Zweigelt unterschiedlicher burgenländischer Produzenten der Jahrgänge 2004-2006 untersucht werden sollen, um die Haupteinflüsse, welche den Charakter eines Weines eines Jahres prägen, herauszufinden.

## EINLEITUNG

Die Aromafraktion eines Weines spielt mit einem Anteil von 0,05% mengenmäßig eine recht unbedeutende Rolle, dennoch ist sie jener Teil, der die Qualität eines Weines wesentlich beeinflusst und die Eigenart einer Sorte prägt. Die flüchtige Fraktion eines Weines besteht aus mehr als 800 Verbindungen, wie z.B. Alkohole, Ester, Organische Säuren, Phenole, Thiole, Monoterpene und Norisoprenoide, wobei nur 30 - 40 dieser als geruchsaktiv beschrieben werden und so das Aroma des Weines prägen. Die Charakteristik einzelner Rebsorten wird dabei von Verbindungen hervorgerufen deren Mengen nur im Nano – bis Mikrogramm pro Liter Bereich vorliegen und die zudem extrem flüchtig sind.

Die Analyse solcher aromarelevanter Substanzen muss im Bereich der sensorischen Wahrnehmungsschwelle liegen. Auf Grund der geringen Konzentrationen und der

Flüchtigkeit vieler, der für das Weinaroma verantwortlichen Verbindungen, erfordert die Analyse den vorangehenden Einsatz hoch selektiver und effizienter Anreicherungsschritte, da die Selektivität und Sensitivität eines hochauflösendes Kapillargaschromatographiegerätes mit Massenspektrometer (GC-MS) allein oft nicht ausreichend sind. Daher ist die Probenvorbereitung einer der wesentlichsten Arbeitsschritte, da durch sie eine Abtrennung der zu untersuchenden Analyten von der restlichen Matrix, aber auch eine Konzentration selbiger erfolgt. Diese Probenvorbereitung kann auf vielfältige Weise erfolgen, wobei für die Matrix Wein als wässrige Lösung am ehesten klassische Methoden wie die Flüssig – Flüssig Extraktion (LLE), Flüssig Flüssigmikroextraktion (LLME), Mikrowellenextraktion, Extraktion mit überkritischen Medien (SFE) und Festphasenextraktion (SPE) in Frage kommen. Diese klassischen Methoden haben allerdings einige Nachteile wie z.B. die schlechte Reproduzierbarkeit, eine eventuelle Verunreinigung der Proben durch kontaminierte Lösungsmittel, die lange Vorbereitungsdauer oder eine zu niedrige Selektivität.

SPE und LLE wären zwar einfach und recht kostengünstig, allerdings muss hier ein Konzentrationsschritt (Verdampfen des Lösungsmittels) angehängt werden um die Nachweisgrenze nicht zu unterschreiten. Dieser Schritt erhöht wiederum die Vorbereitungszeit und die Möglichkeit flüchtige Analyten zu verlieren.

Eine weitere Probenvorbereitungsmethode ist die Solid Phase Micro Extraktion (SPME). Diese hat zahlreiche Vorteile wie hohe Sensitivität und Reproduzierbarkeit, niedrige Kosten, lösungsmittelfreie Extraktion, keine vorhergehende Probenvorbereitung und die Möglichkeit der Automatisierung. Weiters wird die Probenvorbereitung allgemein durch die merklichen Unterschiede der einzelnen Substanzen in Polarität, Flüchtigkeit, Löslichkeit und die zuweilen geringe Stabilität der Analyten erschwert.

Im Rahmen eines drei Jahre dauernden Forschungsprojektes, dessen Zweck letztendlich die Untersuchung der unterschiedlichen Einflüsse auf die chemische Zusammensetzung von jeweils fünf Blaufränkisch und fünf Zweigelt aus dem Burgenland der Jahrgänge 2004 – 2006 sein wird, werden die flüchtigen Verbindungen mittels Gaschromatographie nach entsprechender Probenvorbereitung, sowohl LLE und SPME, bestimmt.

Die so erhaltenen Daten werden zusätzlich mittels multivariaten Datenanalyse (MasStat<sup>®</sup> und Unscrambler<sup>®</sup>) untersucht um eventuelle Trends bezüglich Vinifikation, Produzent, Jahrgang, Anbaugebiet, Sorte und Aromastoffe zu erkennen.

Der Vorteil von MasStat<sup>®</sup> liegt darin, dass hier direkt GC – MS Rohdaten ohne zeitaufwändige Datenmanipulation importiert werden können. Im Gegensatz dazu können im Unscrambler Analysendaten unterschiedlicher Methoden erfasst werden.

## MATERIAL UND METHODEN

### Proben

Die untersuchten Proben waren Weine des Jahrgangs 2005 und bestanden aus je fünf Zweigelt und je fünf Blaufränkisch aus 4 unterschiedlichen Weinbaugebieten der Weinbauregion Österreich (hier nur aus dem Burgenland).

**Tabelle 1: verwendete Weinproben**

Rebsorte	Codierung	Weinbaugebiet
Zweigelt	A	Neusiedlersee-Hügelland
Zweigelt	B	Weinbaugebiet Neusiedlersee
Zweigelt	C	Weinbaugebiet Neusiedlersee
Zweigelt	D	Mittelburgenland
Zweigelt	E	Südburgenland
Blaufränkisch	F	Mittelburgenland
Blaufränkisch	G	Mittelburgenland
Blaufränkisch	H	Neusiedlersee – Hügelland
Blaufränkisch	I	Südburgenland
Blaufränkisch	J	Neusiedlersee - Hügelland

### Probenvorbereitung

Um eventuelle Flascheninhomogenitäten zu eliminieren wurden jeweils zwei Flaschen eines Weines vereinigt.

Zur Extraktion wurden 200mL Wein nach Zugabe von internen Standards (0,55mg/L<sub>Wein</sub> 2-Octanol in Methanol und 2,85mg/L<sub>Wein</sub> 3-Octanol in Methanol) mit 40g NaCl und 20mL Dichlormethan für 30 min bei 4°C im Kühllabor in 250 ml verschlossenen Schottschraubflaschen gerührt.

Die so entstandene Emulsion wurde 20min zentrifugiert (8000rpm; 4-6°C) und anschließend die wässrige von der organische Phase getrennt. Danach wurde die wässrige Phase ein zweites Mal extrahiert und beide Extrakte vereinigt.

Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat filtriert, eingeeengt (Zymark Turbo Vap 500: Wasserbadtemperatur 30°C, Ventilatorstufe B) und schließlich in einem Maßkolben mit Dichlormethan auf ein definiertes Endvolumen von 5mL gebracht.

Die so gewonnen Proben werden in weiterer Folge als Extrakte bezeichnet werden.

Für die SPME-Messung wurden 4mL Wein, 1g NaCl und ein Magnetührer in ein passendes Vial gefüllt. Die SPME erfolgte mit einer Supelco 50/30µm PDMS Stable Flex 2cm Faser.

## Bestimmung der flüchtigen Verbindungen

Sowohl die Extrakte als auch die unverdünnten Weine der SPME wurden mittels GC-MS vermessen.

Dabei erfolgte die Auftrennung der Analyten bei der Vermessung der Extrakte mit einer Varian VF-5ms 30m, 0,25mm ID, 0,25µm Schicht Säule wohingegen bei der SPME eine J&W HP5 30m, 0,25mm, 1µm Schicht Säule verwendet wurde.

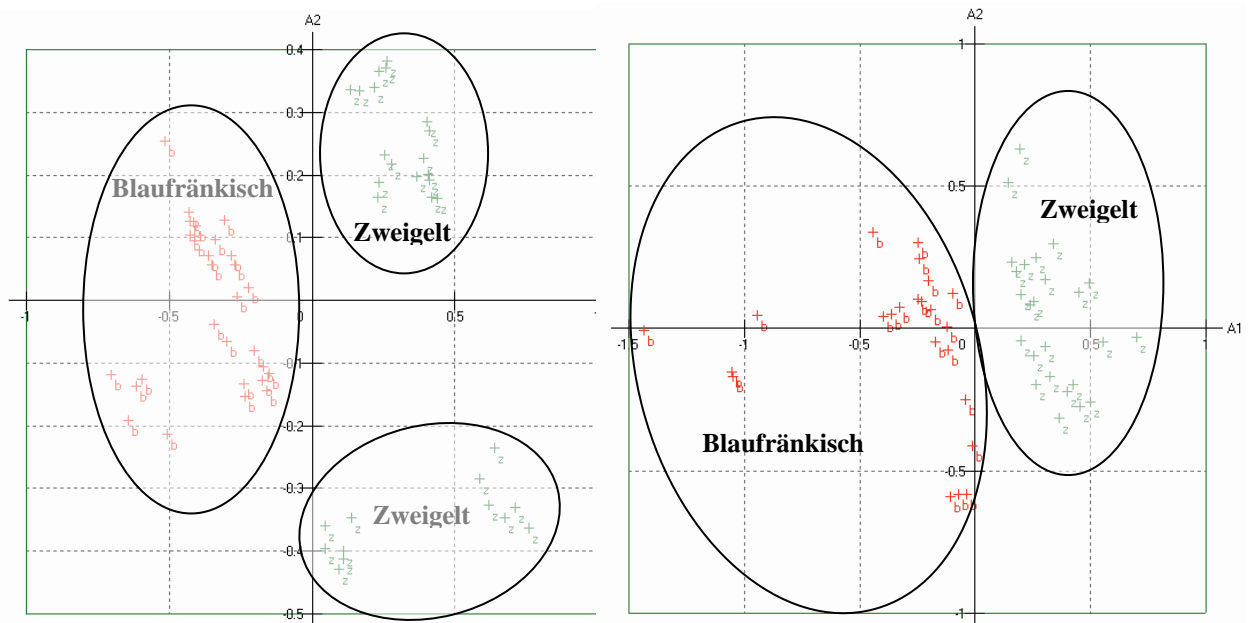
**Tabelle 2: Temperaturprogramme**

GC-MS	GC-SPME
-30°C (1min) – 8°C/min – 280°C	30°C (1min) – 8°C/min – 290°C (2min)

## ERGEBNISSE

Die Auswertung erfolgte mittels MasStat<sup>®</sup>; hierbei kann man gut erkennen dass sich die beiden Probenvorbereitungsmethoden LLE und SPME signifikant voneinander unterscheiden (siehe Abb. 1 und 2).

Außerdem scheinen bei den Zweigelt Extrakten Verbindungen extrahiert zu werden, die zumindest bei den Extrakten zu einer klareren Abgrenzung der Weine der verschiedenen Produzenten untereinander führen (siehe Abb. 1), da hier eindeutigere Cluster zu erkennen sind.



**Abbildung 1: Extrakte Blaifränkisch gegen Zweigelt**

**Abbildung 2: SPME Blaifränkisch gegen Zweigelt**

Außerdem wurde eine Auswertung mittels Unscrambler® durchgeführt, die Ergebnisse dazu sind in Abbildung drei und vier dargestellt.

Wenn man diese beiden Abbildungen miteinander vergleicht sticht sofort ins Auge, dass sich die Rebsorte Zweigelt hauptsächlich durch die zwei Verbindungen Guaiacol und Syringol vom Blaufränkisch unterscheidet. Wobei ein Zweigelt, Probe Nummer E, einen signifikanten Unterschied zu den restlichen Zweigeltproben aufweist und offensichtlich eher durch die zwei Verbindungen 5-Methylfurfural und Vanillin charakterisiert wird. Diesem Wein wurde auch bei der sensorischen Analyse eine Vanillette bzw. Nussnote zugeordnet.

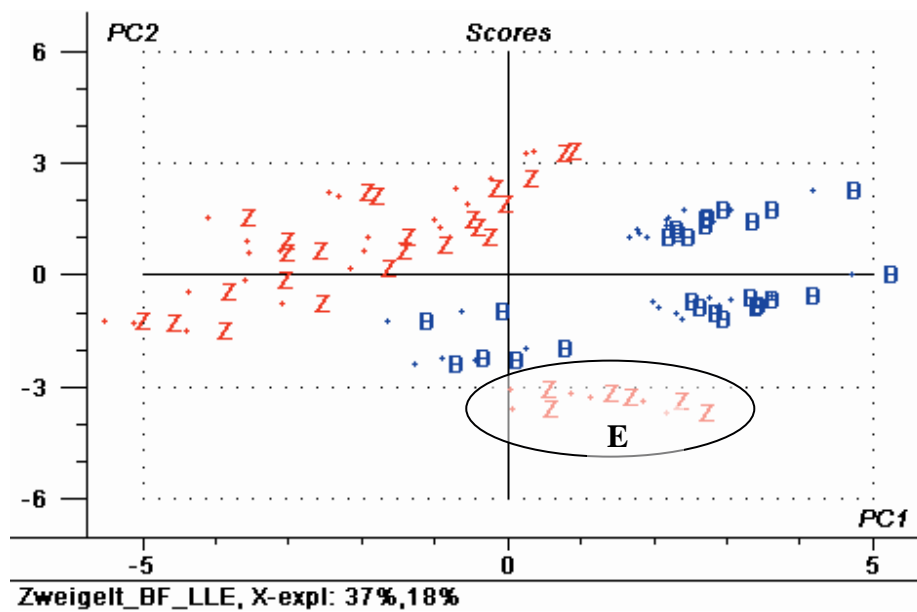


Abbildung 3: Unscrambler Auswertung Zweigelt und Blaufränkisch

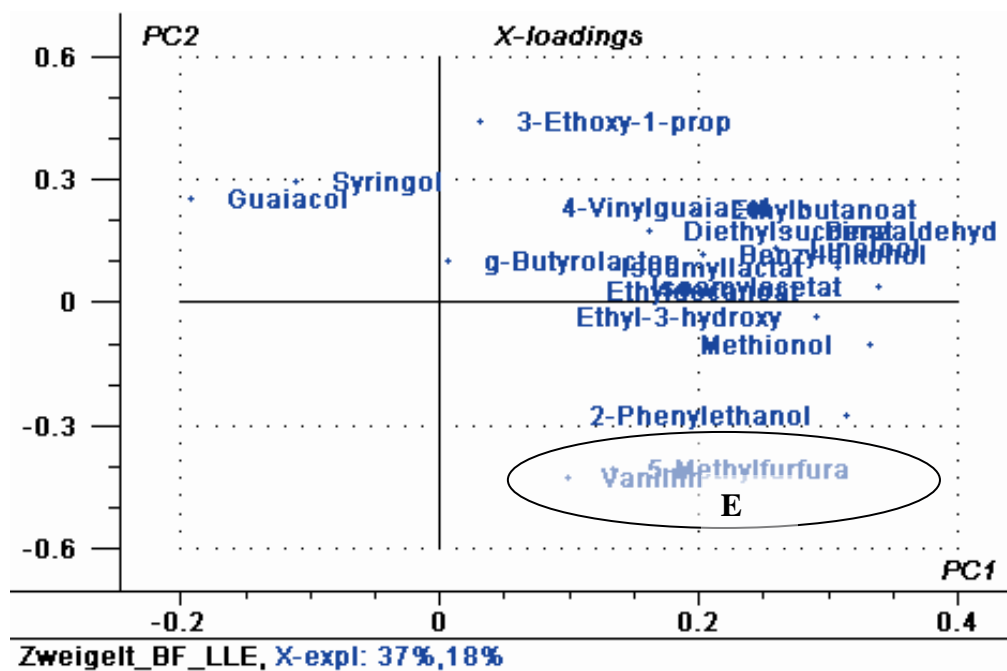


Abbildung 4: Unscrambler Auswertung Zweigelt und Blaufränkisch

## LITERATURSTELLEN

CABREDO-PINILLOS, S., CEDRÓN – FERNÁNDEZ, T., SÁEZ-BARRIO, C. (2004): Comparison of Different Extraction Methods Applied to Volatile Compounds in Wine Samples Previous to the Determination by Gas Chromatography. *Analytical Letters* Vol.37, No.14, 3063-3084

CÂMARA, J.S., ARMINDA ALVES, M., MARQUES, J.P. (2006): Development of headspace solid-phase microextraction-gas-chromatography spectrometry methodology for analyses of terpenoids in Madeira wines. *Analytical Chimica Acta* **555** 191-200

ORTEGA – HERAS, M., GONZÁLEZ – SANJOSE, M. L., BELTRÁN, S. (2002): Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytical Chimica Acta* **458** 85-93

PENA, R. M., BARCIELA, J., HERRERO, C., GARCÍA – MARTÍN, S. (2005): Optimization of solid-phase microextraction methods for GC-MS determination of terpenes in wine. *Sci Food Agric* **85** 1227-1234

ZALACAIN, A., MARÍN, J., ALONSO, G. L., SALINAS, M.R. (2007): Analysis of wine primary compounds by stir bar sorptive extraction. *Talanta* **71** 1610-1615

EBELER, S. E., TERRIEN, M. B., BUTZKE, E.B. (2000): Analysis of brandy aroma by solid-phase microextraction and liquid liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80** 625-630