

Bestimmung charakteristischer Aromastoffe in Barriqueweinen mittels HPLC und GC-MS

WALTER BRANDES, SILVIA WENDELIN und REINHARD EDER

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
Brandes@hblawo.bmlf.gv.at

Es wird ein neuartiges Verfahren für die analytische Erfassung wichtiger Aromabestandteile von Barriqueweinen vorgestellt. Um verschiedene Substanzen zu erfassen, wird sowohl eine GC-MS- wie auch eine HPLC-Analyse durchgeführt. Für die GC-MS-Analyse werden die Aromastoffe mittels Wasserdampfdestillationsschritt und nachfolgender manueller Flüssig-Flüssig-Extraktion aus dem Wein isoliert. Der aufkonzentrierte Extrakt eignet sich auf Grund seiner Reinheit direkt für die Analyse mittels GC-MS. Substanzen mit einer geringen Wasserdampflichkeit, wie beispielsweise Vanillin und Syringaldehyd, werden mittels Festphasenextraktion aus dem Wein isoliert und anschließend mittels HPLC und UV-Detektion bestimmt. Die Empfindlichkeit beträgt bei der HPLC-Methode ca. 100 µg Substanz pro Liter und bei der GC-MS wenige Mikrogramm Substanz pro Liter. Beide Methoden zeichnen sich durch ihre Geräteschonung auf Grund der umfangreichen Vorreinigung aus. Die analytischen Kenndaten im Bezug auf Robustheit, Richtigkeit und Präzision sind unter Berücksichtigung der geringen Konzentrationen befriedigend.

Schlagwörter: Eichenholz, Barrique, Aromasubstanzen, GC-MS

Determination of characteristic aroma substances in barrique wines by means of HPLC and GC-MS. A new procedure for the analytical determination of important aroma substances of barrique wines, for which HPLC and GC-MS are employed, is described. For the GC-MS analysis the aroma substances are isolated from the wine by means of steam distillation and manual liquid-liquid-extraction. Due to its purity the concentrated extract can be used directly for GC-MS analyses. Less volatile substances, e.g. vanillin and syringaldehyde, are isolated by means of solid phase extraction and then determined by HPLC and UV-detection. Detection limits are 100 µg substance per litre for HPLC and just some micrograms for GC-MS. Because of the extensive pre-purification both methods allow careful handling of the laboratory devices. With respect to the low concentrations analytical parameters of robustness, correctness and precision are quite satisfactory.

Key words: Oak wood, barrique, volatile compounds, GC-MS

La détermination de substances aromatiques caractéristiques dans les vins élevés en barrique au moyen d'analyses HPLC et GC-MS. Une nouvelle procédure analytique d'identification des composants aromatiques importants des vins élevés en barrique est présentée. Il est procédé tant à une analyse GC-MS qu'à une analyse HPLC afin de détecter les différents substances. Pour l'analyse GC-MS, les substances aromatiques sont isolées du vin au moyen de la distillation à la vapeur, suivie par une extraction liquide-liquide manuelle. Grâce à sa pureté, l'extrait surconcentré est directement adapté à l'analyse par GC-MS. Les substances peu entraînaibles à la vapeur, telles que la vanilline et le syringaldéhyde, sont isolées du vin au moyen de l'extraction sur phases solides et déterminées ensuite à l'aide de HPLC et de la détection UV. Pour la méthode HPLC, la sensibilité se situe autour de 100 µg de substance par litre, et pour le GC-MS elle s'élève à quelques microgrammes de substance par litre. Les deux méthodes se caractérisent par le ménagement des instruments grâce au prénettoyage important. Compte tenu de la faible concentration, les données caractéristiques d'analyse quant à la robustesse, l'exactitude et la précision sont satisfaisantes.

Mots clés: Bois de chêne, barrique, composés volatiles, GC-MS

Das traditionelle Holzfass wird in der modernen Kellertechnik zunehmend durch modernere Lagerbehälter aus Edelstahl oder Kunststoff ersetzt. Dagegen ist die Lagerung vor allem von Rotweinen in Barriques sowohl national als auch international zu einem etablierten Bestandteil der Weinproduktion geworden. Üblicherweise verleiht der Ausbau in kleinen Eichenfässern den Weinen eine längere Haltbarkeit und zusätzliche Geschmacks- und Geruchsbestandteile, sodass auch höhere Verkaufserlöse erzielt werden. Die Beurteilung solcher Weine vor allem in Hinblick auf eine Optimierung der Technologie stellt sowohl an Sensorik als auch Analytik eine Herausforderung dar. Für eine sinnvolle sensorische Evaluierung sind mit entsprechenden Aromastandards geschulte Koster und statistisch reproduzierbare Kostabläufe wichtige Voraussetzungen (AIKEN et al., 1984).

Durch den Barrique-Ausbau gelangt eine Vielzahl charakteristischer Aromastoffe in den Wein, die grob in folgende Gruppen eingeteilt werden können (MASSON et al., 1996):

- 1) Furanderivate (wie Furfural oder 5-Methylfurfural)
- 2) Lactone (wie das *cis*- und *trans*-Isomer des b-Methyl-g-octalacton (Whiskeylacton))
- 3) Flüchtige Phenole (wie Vanillin, Guajacol, und die isomeren Kresole)
- 4) Tannine (wie Ellagatannine)

Diese und eine Reihe weiterer Verbindungen entstehen im Zuge der Thermodegradation aus originären Holzbestandteilen und werden durch den Wein herausgelöst, wobei die Endmenge stark von der verwendeten Eiche und der Zahl der Befüllungen abhängt (ROUS et al., 1983).

Für die Analytik dieser Substanzen sind auf Grund der geringen Konzentrationen im Wein (meist kleiner als 1 mg/l) Anreicherungsverfahren notwendig. Verschiedene Extraktionen mit organischen Lösungsmitteln sind auf Grund der relativ geringen Anforderungen an die apparative Ausstattung eine häufig applizierte Technik. Insbesondere Holzspäne (CUTZACH et al., 1997) und wässrig-ethanolische Holzauzüge (FEUILLAT et al., 1997; SEFTON et al., 1990; PEREZ-COELLO et al., 1999) können mit Extraktionsverfahren relativ einfach untersucht werden. Dagegen führt die Extraktion von Mosten und Weinen, außer bei der Verwendung von kontinuierlichen Flüssig-Flüssig-Extraktoren (VAN WYK et al., 2000; ETIEVANT 1981), unter diesen Bedingungen zu sehr stabilen Emulsionen. Um eine Phasentrennung zu erreichen, sind in solchen Fällen arbeitsaufwendige Zentrifugationsschritte notwendig (WATER-

HOUSE et al., 1994; TOWEY et al., 1996a und 1996b; CHATONNET et al., 1995; ETIEVANT et al., 1989). Festphasenextraktionen (PUECH, 1987; DUGELAY et al., 1993; GUNATA et al., 1985; KARAGIANNIS et al., 2000), bei denen diese Komplikationen vermieden werden, sind daher in manchen Fällen empfindlicher als Flüssigextraktionen (GELBMANN et al., 1997). Eine relativ neue und elegante Möglichkeit, um Lösungsmittel bei der Probenvorbereitung gänzlich zu vermeiden, ist die Aromaanalyse mittels SPME (Festphasenmikroextraktion). Allerdings haben bei dieser Technik im Gegensatz zu den beiden vorher genannten Methoden wesentlich mehr Parameter Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Das wiederholte direkte Eintauchen der Faser in die Probe führt zu einer Effizienzminderung des Extraktionsschrittes, da thermisch nicht desorbierbare Substanzen stetig angereichert werden. Weiters ist auf Grund des sehr kleinen Phasenverhältnisses ein großer Matrixeinfluss vorhanden (WHITON et al., 2000). Diese Effekte können durch die Anwendung von SPME-Headspace-technik reduziert werden, wobei sich allerdings die Selektivitäten teilweise stark verändern (HARMON, 1997). Die langsame Equilibrierungskinetik wenig flüchtiger Verbindungen zwingt außerdem zu beträchtlich langen Expositionszeiten der SPME-Faser im Dampfraum der Probe (DE LA CALLE GARCIA et al., 1998). Auf Grund dieser Schwierigkeiten und weiterer Einflussfaktoren, wie Beschichtungsdicke und -material der Faser sowie Selektivität des internen Standards, sind quantitative Analysen verglichen mit Flüssig-Flüssig-Extraktionen unter Verwendung eines internen Standards problematischer (CHATONNET, 1999).

Da die für Barriqueweine typischen Aromastoffe chemisch sehr unterschiedlich sind und auch nur in geringen Konzentrationen vorliegen, wurde bei der Entwicklung und Beurteilung einer Analysenmethode besonderes Augenmerk auf Robustheit, Richtigkeit und Präzision gelegt.

Material und Methoden

Gaschromatographie mit massenselektivem Detektor (GC-MSD)

Reagenzien

Furfural 99 % (Fa. Aldrich, Nr. W18,591-4)

5-Methylfurfural 99 % (Fa. Aldrich, Nr. W13,731-6)

Guajacolumethylether (Fa. Extrasynthese, Genay, Frankreich)

Guajacol (Fa. Extrasynthese, Genay, Frankreich)
 Whiskeylacton 98 % (Fa. Aldrich, Nr. W38,031-8)
 4-Ethylguajacol 98 % (Fa. Aldrich, Nr. W24,360-4)
 o-Kresol 99 % (Fa. Aldrich, Nr. W34,800-7)
 p-Kresol 98 % (Fa. Aldrich, Nr. W23,370-6)
 m-Kresol 98 % (Fa. Aldrich, Nr. W35,300-0)
 4-Ethylphenol 98 % (Fa. Aldrich, Nr. W31,560-5)
 4-Vinylphenol 10 % in Propylenglycol (Fa. Aldrich, Nr. W37,302-3)
 Eugenol 99 % (Fa. Aldrich, Nr. E 5504)
 Natriumsulfat wasserfrei (Fa. Sigma, Nr. S-9627)
 Ethanol absolut p.A. (Fa. Riedel de Haën, Nr. 32221)
 Methanol Chromasolv (Fa. Riedel de Haën, Nr. 3486)
 Chloroform zur Rückstandsanalyse (Fa. Merck, Nr. 2432)
 Dichlormethan 99,6 % (Fa. Aldrich, Nr. D6,510-0)
 Schwefelsäure 98 % (Fa. Fluka, Nr. 84727)
 Kaliummetabisulfit 95 % (Fa. Roth, Nr. 7995)
 4-Chlorbenzoesäuremethylester Eigensynthese, 2-mal umkristallisiert aus Methanol und getrocknet über Phosphorpentoxid, Reinheitstest auf GC-MS
 Stammlösung 1: Je ca. 50 mg Furfural, 5-Methylfurfural, Guajacolmethylether, Guajacol, Whiskeylacton, 4-Ethylguajacol, o-Kresol, p-Kresol, m-Kresol, 4-Ethylphenol, Eugenol und ca. 500 mg 4-Vinylphenol werden in 50 ml reinem Ethanol gelöst.
 Stammlösung 2: 1 ml Stammlösung 1 werden auf 100 ml mit reinem Ethanol aufgefüllt.
 Standard 1 bis 5: 0,5 / 1,0 / 2,0 / 5,0 bzw. 10,0 ml Stammlösung werden auf 200 ml mit 10 %-igem Ethanol aufgefüllt.
 Interner Standard: ca. 10 mg 4-Chlorbenzoesäuremethylester werden in 100 ml reinem Methanol gelöst.

Probenvorbereitung

200 ml Probe werden mit 0,5 ml Internem Standard, 200 µl konzentrierter H₂SO₄ und einer Spatelspitze K₂S₂O₅ versetzt und anschließend bis zu einer Destillatmenge von ca. 200 ml wasserdampfdestilliert. Das Destillat wird mit 200 µl konzentrierter H₂SO₄ angesäuert und in einem Schütteltrichter zweimal mit je 25 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit einem halben Löffel Na₂SO₄ getrocknet und anschließend am Rotavapor bis fast zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 0,5 ml Chloroform aufgenommen und direkt für die GC-MS-Analyse verwendet.

Für die Kalibrierung wurden die Standardlösungen wie die Probe aufgearbeitet.

GC-Parameter

Gerät: Gaschromatograph 5890 Serie II (Fa. Hewlett-Packard, Wien)
 Trägergas: Helium 5.6
 Trennsäule: BP-20, Länge 60 m, 0,25 mmID, Filmdicke 0,25 µm (Fa. SGE, BRD)
 Säulenkopfdruck: 10 psi, konstant
 Injektionsvolumen: 1 µl splitless
 Injektor-Temperatur: 255 °C
 Transferline-Temperatur: 250 °C
 Temperaturprogramm:
 Initial Time: 1,5 min

	Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Level 1	20	110	0
Level 2	2	226	0
Level 3	50	255	15

Gesamtlaufzeit: 78,08 min

MS-Parameter

Gerät: Massenselektiver Detektor 5970 (Fa. Hewlett-Packard, Wien)
 Kopplung: Direct Interface
 Electron multiplier-Spannung: 1400 V
 Mode: Single Ion Monitoring
 Massenfragmente (m/z):
 Furfural 39,95,96
 5-Methylfurfural 53,109,110
 Guajacolmethylether 77,95,123,138
 Guajacol 53,81,109,124
cis-Whiskeylacton 69,71,99
trans-Whiskeylacton 69,71,99
 4-Ethylguajacol 137,152
 o-Kresol 77,79,107,108
 p-Kresol 77,79,107,108
 m-Kresol 77,79,107,108
 Eugenol 77,103,149,164
 4-Ethylphenol 77,107,122
 4-Vinylphenol 45,91,119,120
 Interner Standard 111,139,141,170
 Quantifizierung über die Fläche des Totalionenchromatogramms der Fragmente

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Reagenzien

Ameisensäure 98-100 % (Fa. Riedel de Haën, Nr. 33015)

Methanol Chromasolv (Fa. Riedel de Haën, Nr. 3486)

Salzsäure 37 % p.A. (Fa. Riedel de Haën, Nr. 30721)

Ethylacetat für Chromatographie (Fa. Merck, Nr. 868)

3-Hydroxybenzaldehyd 97 % (Fa. Roth, Nr. 3999)

Vanillin (Fa. Roth, Nr. 5108)

Syringaldehyd 99 % (Fa. Roth, Nr. 5359)

Stammlösung: Je 10 mg Vanillin bzw. Syringaldehyd werden in 100 ml reinem Methanol gelöst.

Standard 1 bis 3: 1,0/5,0 und 10,0 ml Stammlösung werden mit reinem Methanol auf 100 ml aufgefüllt.

Interner Standard: 32 mg 3-Hydroxybenzaldehyd werden in 100 ml reinem Methanol gelöst.

Probenvorbereitung

10 ml Probe werden mit 0,5 ml Internem Standard versetzt und am Rotavapor zur Entfernung des Alkohols ca. 3 Minuten eingedampft. Der Rückstand wird mit 1 N Salzsäure auf 20 ml aufgefüllt und anschließend auf ein aktiviertes RP-18 Festphasensäulchen aufgebracht und bei einer Geschwindigkeit von ca. 1 Tropfen pro Sekunde extrahiert. Der Extrakt wird vom Säulchen mit 5 ml Ethylacetat eluiert und die organische Phase am Rotavapor bei einer Wasserbad-Temperatur von ca. 30 °C bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 1 ml Methanol gelöst und die Lösung nach Spitzenfiltration (0,45 µm) direkt für die HPLC-Analyse verwendet.

Für die Kalibrierung wurden die Standards nach Spitzenfiltration direkt injiziert.

HPLC-Parameter

Festphasenextraktionssäulchen: Bond Elut RP-18 (Fa. Varian, Nr. 12102028), aktiviert mit je zwei Säulenvolumina Methanol und 0,01 N Salzsäure

Spitzenfilter: 13 mm Durchmesser, 0,45 µm (Fa. Waters, Wien, Nr. WAT 200512)

Gerät: Pumpe 510 und 501 mit Probengeber 712 WISP und Detektor 490E (alles Fa. Waters, Wien)

Säule: Lichrospher RP-18, 240 x 4, 5 µm mit Vorsäule 4 x 4, 5 µm (Fa. Merck)

Säulentemperatur: 40 °C

Laufmittel A: 0,5 % (v/v) Ameisensäure in Wasser

Laufmittel B: Methanol

Fluss: 0,8 ml pro Minute

Einspritzvolumen: 30 µl

Laufmittelgradient:

Zeit (min)	Laufmittel A (%)	Laufmittel B (%)
0	100	0
20	90	10
75	80	20
80	20	80
95	20	80
100	100	0
115	100	0

Gesamtlaufzeit: 115 min

Detektionswellenlänge: 280 und 310 nm

Quantifizierung über die Fläche des Signals bei 310 nm

Ergebnisse und Diskussion

Die in der Einleitung beschriebene Problematik der Emulsionsbildung bei der direkten Extraktion von Wein mit Dichlormethan konnte auch durch Variation der Extraktionsbedingungen (unterschiedliche Lösungsmittelvolumina, Salzzugaben, Temperaturänderungen) nicht beseitigt werden. Da die Zentrifugierung und nachfolgende Separierung der organischen Phase vor allem bei größeren Flüssigkeitsmengen sehr mühsam und zeitraubend ist, wurde getestet, ob eine Wasserdampfdestillation grundsätzlich für die Probenvorbereitung geeignet ist. Es wurde ein elektrischer Wasserdampferzeuger mit Zeitschaltuhr verwendet, der für die Gewinnung von ca. 200 ml Wasserdampfdestillat ca. 20 Minuten braucht. Die nachfolgende manuelle Extraktion des Destillates mit Dichlormethan ist problemlos und führt innerhalb von 40 bis 60 Sekunden zur einwandfreien Trennung der Phasen.

Es stellte sich aber heraus, dass Vanillin und Syringaldehyd keine ausreichende Wasserdampflichkeit aufweisen, sodass für die Bestimmung dieser beiden Substanzen eine separate HPLC-Analytik mit RP-C₁₈ Festphasenextraktion entwickelt werden musste. Dieser arbeitstechnische Nachteil wird aber durch verschiedene Vorteile aufgewogen. Sowohl die mittels Wasserdampfdestillat und Dichlormethanextraktion wie auch die mittels RP-C₁₈ Festphasenextraktion gewonnenen

Extrakte sind durch die umfangreiche Vorreinigung sehr sauber und belasten weder die HPLC- noch die GC-MS-Trennung. Die Analyse von über 100 Weinen führte in beiden Fällen zu keiner nennenswerten Minderung der Trennleistung.

Die Kalibrierung der Methoden ergab für alle Substanzen einen linearen Zusammenhang, wobei das Bestimmtheitsmaß (R^2) der Regressionsfunktion zwischen 0,977 und 1,000 liegt (Tab. 1). Es ist aber zu beachten, dass bei längerer Lagerung der Extrakte bei Raumtemperatur die Konzentration der leichter flüchtigen Sub-

Tabelle 1:
Bestimmtheitsmaß (R^2) der Kalibrationsgeraden

Substanz	R^2
Furfural	0,990
5-Methylfurfural	0,986
Guajacolmethylether	0,990
Guajacol	0,998
<i>cis</i> -Whiskeylacton	1,000
<i>trans</i> -Whiskeylacton	1,000
<i>o</i> -Kresol	0,998
4-Ethylguajacol	0,996
<i>m</i> -Kresol	0,977
<i>p</i> -Kresol	0,998
Eugenol	0,993
4-Ethylphenol	0,999
4-Vinylphenol	0,983
Vanillin	1,000
Syringaldehyd	0,999

stanzen ansteigt (Tab. 2), sodass die Injektion in die GC-MS daher möglichst rasch nach der Extraktion erfolgen soll.

Für die Bestimmung des Matrixeinflusses wurden drei bzw. vier Weine zuerst direkt und anschließend nach Aufstockung mit unterschiedlichen Mengen an Zielsubstanzen analysiert. Die Wiederfindungsraten lagen für die meisten Substanzen zwischen 76,2 und 127,9 % (Tab. 3) und sind mit denen anderer Ergebnisse vergleichbar (GELBMANN et al., 1997). Lediglich 4-Vinylphenol wies aus bisher nicht geklärten Ursachen mit 171,4 % eine deutlich höhere Wiederfindungsrate auf.

Für die Reproduzierbarkeitsbewertung der Methoden wurden zwei Weine vier bzw. fünfmal analysiert und die Ergebnisse statistisch evaluiert. Die relativen Standardabweichungen (Tab. 4) lagen in allen Fällen unter 10 % und zeigten eine gute Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen (TOWEY et al., 1996).

Tabelle 2:
Konzentrationsveränderung bei Lagerung eines Extraktes für die GC-MS bei Raumtemperatur (Mittelwert aus zwei Einspritzungen)

Substanz	Konzentration am 1. Tag ($\mu\text{g/l}$)	Konzentration am 8. Tag ($\mu\text{g/l}$)
Furfural	126,4	143,0
5-Methylfurfural	42,6	50,3
Guajacolmethylether	45,0	52,3
Guajacol	49,2	48,0
<i>cis</i> -Whiskeylacton	16,6	17,0
<i>trans</i> -Whiskeylacton	17,4	17,7
<i>o</i> -Kresol	53,9	53,9
4-Ethylguajacol	37,2	34,0
<i>m</i> -Kresol	32,9	32,0
<i>p</i> -Kresol	43,4	43,0
Eugenol	59,1	55,4
4-Ethylphenol	39,6	41,7
4-Vinylphenol	142,8	137,0

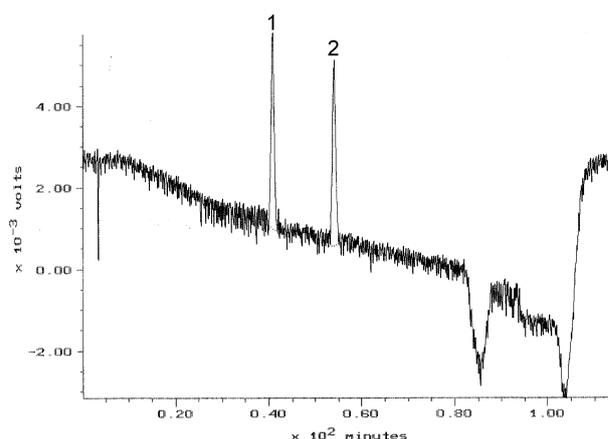


Abb. 1: HPLC-Standardchromatogramm mit je 100 $\mu\text{g/l}$ Vanillin und Syringaldehyd
1 = Vanillin; 2 = Syringaldehyd

Tabelle 3:

Mittelwert der Wiederfindungsraten aus vier (Vanillin und Syringaldehyd) bzw. drei (übrige Substanzen) Aufstockungen

Substanz	Wiederfindungsrate (%)
Furfural	88,0
5-Methylfurfural	83,1
Guajacolmethylether	76,2
Guajacol	122,4
<i>cis</i> -Whiskeylacton	100,4
<i>trans</i> -Whiskeylacton	110,2
<i>o</i> -Kresol	126,5
4-Ethylguajacol	124,8
<i>m</i> -Kresol	89,6
<i>p</i> -Kresol	124,1
Eugenol	127,9
4-Ethylphenol	120,5
4-Vinylphenol	171,4
Vanillin	116,0
Syringaldehyd	77,0

Die anhand von Standardchromatogrammen (Abb. 1 und 2) geschätzten Bestimmungsgrenzen liegen für Vanillin und Syringaldehyd bei ca. 100 µg/l. Die mit GC-MS bestimmten Substanzen sind bis zu Konzentrationen von wenigen Mikrogramm pro Liter quantifizierbar.

Die Eignung der vorgestellten Analysentechnik zur Bestimmung von barriquetypischen Aromastoffen wird anhand der Abbildungen 3 bis 6 dargestellt. In Abbildung 3 und 4 werden die HPLC-Auftrennungen von zwei Rotweinen ohne Barrique-Ausbau bzw. nach 15-monatiger Barrique-Lagerung gegenübergestellt.

Einen Vergleich der nach Wasserdampfdestillation und Flüssig-Flüssig-Extraktion ermittelten GC-MS-Auftrennungen der beiden Rotweine bieten die Abbildungen 5 und 6. Die jeweiligen Substanzkonzentrationen sind in den Legenden angegeben. Anhand dieses Beispiels ist gut erkennbar, dass die für den Barrique-Ausbau charakteristische Zunahme bestimmter Aromastoffe mit dieser Analysentechnik gut bestimmbar ist. Zusätzlich ist es auch möglich, potenzielle Weinfelder wie Pferdeschweiß zu verifizieren, indem die den *Bretanomyces*-Ton auslösenden Leitsubstanzen 4-Ethyl-

Tabelle 4:

Reproduzierbarkeitstest durch wiederholte Analyse der gleichen Weinprobe (Anzahl der Wiederholungen für Vanillin und Syringaldehyd 4, alle anderen Substanzen 5)

Substanz	Mittelwert (µg/l)	Relative Standardabweichung (%)
Furfural	113,4	9,9
5-Methylfurfural	42,7	1,7
Guajacolmethylether	45,7	2,9
Guajacol	49,5	0,7
<i>cis</i> -Whiskeylacton	15,7	4,2
<i>trans</i> -Whiskeylacton	17,5	0,7
<i>o</i> -Kresol	54,6	1,2
4-Ethylguajacol	37,5	0,7
<i>m</i> -Kresol	33,3	1,1
<i>p</i> -Kresol	44,3	1,5
Eugenol	57,6	4,1
4-Ethylphenol	40,5	1,7
4-Vinylphenol	147,4	3,6
Vanillin	357,5	4,2
Syringaldehyd	365,0	6,5

phenol und 4-Ethylguajakol quantitativ ermittelt und überprüft werden können (CHATONNET et al., 1995). Beispielhaft wird in Abbildung 7 die GC-MS-Auftrennung eines Rotweines dargestellt, der von amtlichen Weinkostern aufgrund von „Pferdeschweiß“ als fehlerhaft abgelehnt wurde. Der beanstandete Wein weist deutlich überhöhte Gehalte an 4-Ethylphenol und 4-Ethylguajakol auf.

Die hier vorgestellten Methoden stellen einen guten Kompromiss im Bezug auf den notwendigen Aufwand einerseits und die Leistungsfähigkeit andererseits dar. Ihre Praxistauglichkeit wurde von uns im Rahmen mehrerer Versuchsprojekte bestätigt. Beispielsweise wurden mit Hilfe der hier vorgestellten Analysentechnik die lagerungsbedingten Veränderungen erwähnter Aromastoffe in Abhängigkeit von Eichenherkunft und Holzbearbeitung untersucht und mit den Ergebnissen sensorischer Bewertungen verglichen. Eine Publikation dieser Resultate ist in Vorbereitung.

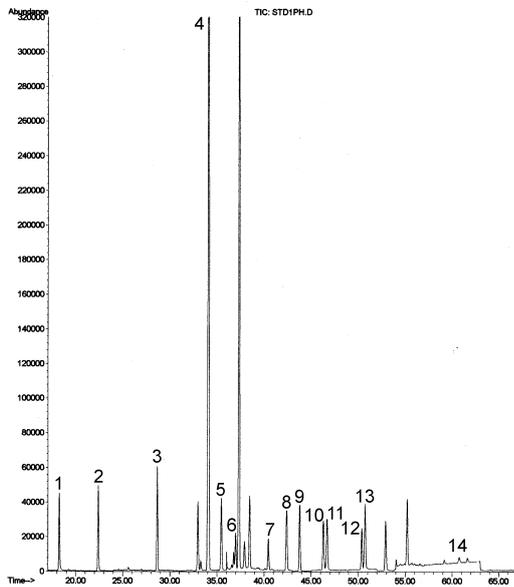


Abb. 2: GC-MS-Standardchromatogramm mit je ca. 25 µg/l Substanz

1 = Furfural; 2 = 5-Methylfurfural; 3 = Guajacolmethylether; 4 = Interner Standard; 5 = Guajacol; 6 = *cis*-Whiskeylacton; 7 = *trans*-Whiskeylacton; 8 = o-Kresol; 9 = 4-Ethylguajacol; 10 = p-Kresol; 11 = m-Kresol; 12 = Eugenol; 13 = 4-Ethylphenol; 14 = 4-Vinylphenol

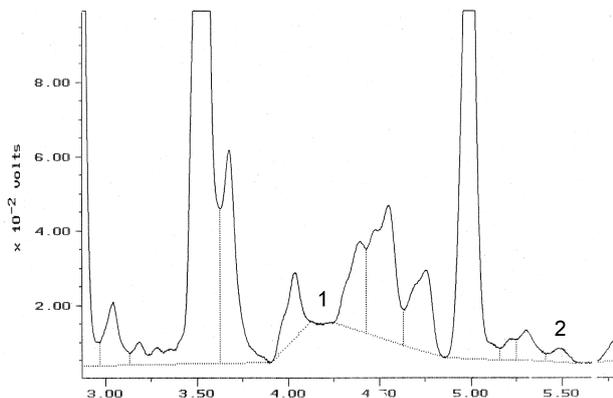


Abb. 3: HPLC-Chromatogramm eines Rotweines ohne Barrique-Ausbau

1 = Vanillin (100 µg, nicht nachweisbar); 2 = Syringaldehyd (130 µg/l)

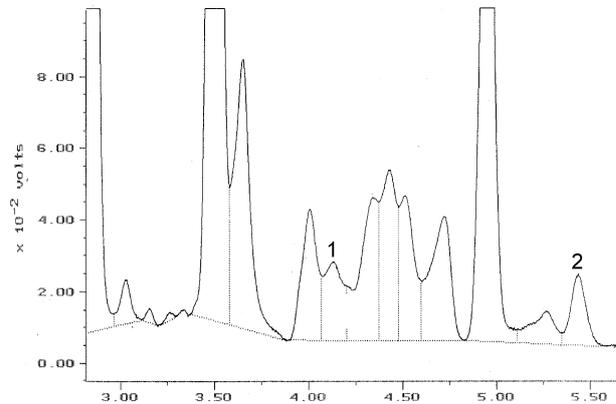


Abb. 4: HPLC-Chromatogramm des Rotweines aus Abbildung 3 nach 15 Monaten Barriquefasslagerung

1 = Vanillin (1060 µg/l); 2 = Syringaldehyd (610 µg/l)

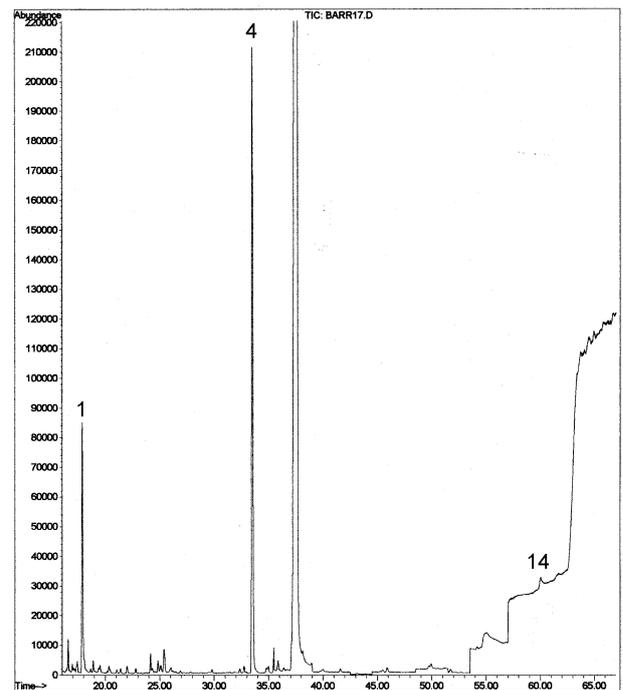


Abb. 5: GC-MS-Chromatogramm eines Rotweines ohne Barrique-Ausbau

1 = Furfural; 4 = Interner Standard; 14 = 4-Vinylphenol

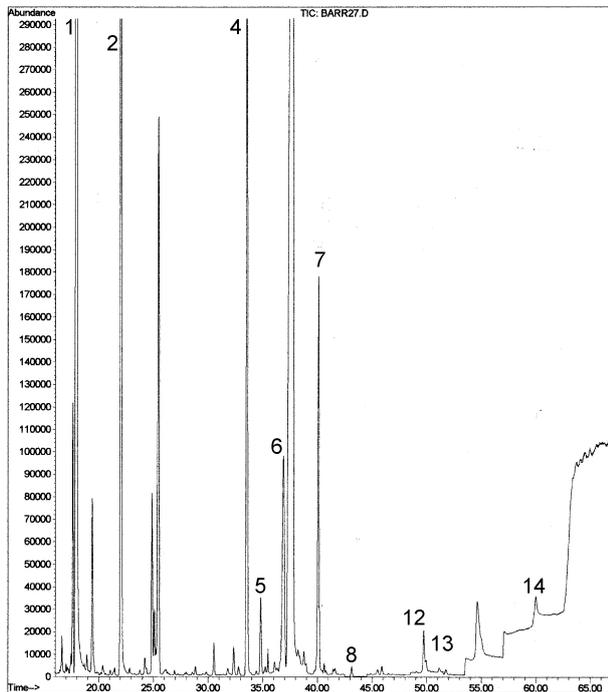


Abb. 6: GC-MS-Chromatogramm des Rotweines aus Abbildung 5 nach 15 Monaten Barriquefasslagerung
1 = Furfural; 2 = 5-Methylfurfural; 4 = Interner Standard; 5 = Guajacol; 6 = *cis*-Whiskeylacton; 7 = *trans*-Whiskeylacton; 8 = *o*-Kresol; 12 = Eugenol; 13 = 4-Ethylphenol; 14 = 4-Vinylphenol

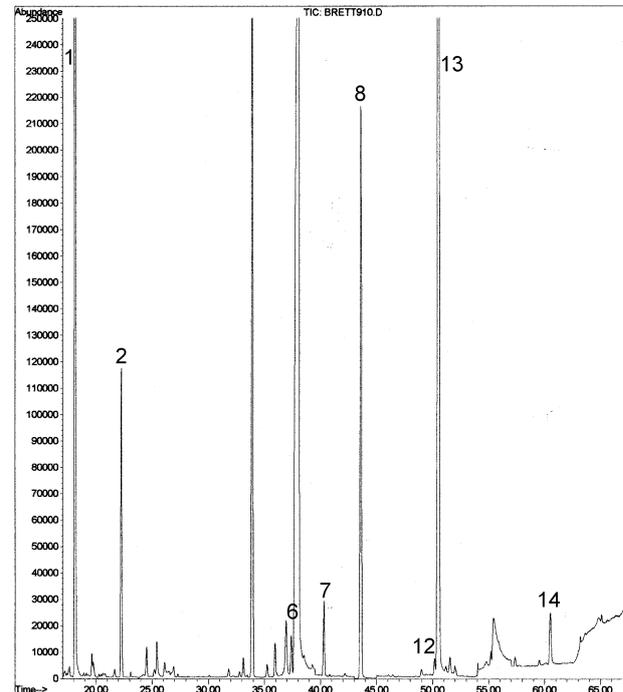


Abb. 7: Barriquewein mit einem Gehalt von 792 µg/l 4-Ethylphenol und 268 µg/l 4-Ethylguajacol
1 = Furfural; 2 = 5-Methylfurfural; 4 = Interner Standard; 6 = *cis*-Whiskeylacton; 7 = *trans*-Whiskeylacton; 8 = 4-Ethylguajacol; 12 = Eugenol; 13 = 4-Ethylphenol; 14 = 4-Vinylphenol

Eine Verringerung der Analysenkosten ist durch eine aliquote Reduzierung sowohl des Proben- als auch Extraktionsmittelvolumens vorstellbar, da ein Extraktvolumen von 0,5 ml für die GC-MS auch bei Doppelinjektionen mehr als ausreichend ist.

Literatur

- AIKEN, J.W. and NOBLE, A.C. 1984: Comparison of the aromas of oak- and glass-aged wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 35(4): 196-199
- CHATONNET, P. 1999: Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak wood barrels. *Am. J. Enol. Vitic.* 50(4): 479-493
- CHATONNET, P., DUBOURDIEU, D. and BOIDRON, J.N. 1995: The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp. yeasts and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 46(4): 463-468
- CUTZACH, I., CHATONNET, P., HENRY, R. and DUBOURDIEU, D. 1997: Identification of volatile compounds with a „toasty“ aroma in heated oak used in barrelmaking. *J. Agric. Food Chem.* 45(6): 2217-2224
- DE LA CALLE GARCIA, D., REICHENBÄCHER, M. und DANZER, K. 1998: Klassifizierung von Weinen mittels multivariater Datenanalyse anhand der SPME/CGC-Chromatogramme von Aromastoffen. *Vitis* 37: 181-188
- DUGELAY, I., GUNATA, Z., SAPI, J.C., BAUMES, R. and BAYONOVE, C. 1993: Role of cinnamoyl esterase activities from enzyme preparations on the formation of volatile phenols during winemaking. *J. Agric. Food Chem.* 41(11): 2092-2096
- ETIEVANT, P.X. 1981: Volatile phenole determination in wine. *J. Agric. Food Chem.* 29(1): 65-67
- ETIEVANT, P.X., ISSANCHOU, S.N., MARIE, S., DUCRUET, V. and FLANZY, C. 1989: Sensory impact of volatile phenols on red wine aroma. *Sci. Aliments* 9: 19-33
- FEULLAT, F., MOIO, L., GUICHARD, E., MARINOV, M., FOURNIER, N. and PUECH, J.L. 1997: Variation in the concentration of ellagitannins and *cis*- and *trans*-*b*-methyl-*g*-octalactone extracted from oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.) under model wine cask conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* 48(4): 509-515
- GELBMANN, D., PRAECEPTOR, A., SALZBRUNN, W. und EDER, R. 1997: Quantitative Bestimmung flüchtiger Phenole in

- Rotweinen mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie. Mitt. Klosterneuburg 45: 95-103
- GUNATA, Y.Z., BAYONOVE, C.L., BAUMES, R.L. and CORDONNIER, R.E. 1985: Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape components. J. Chromatogr. (331): 83-90
- HARMON, A.D. (1997): Solid-phase microextractions for the analysis of flavors. In: Techniques for analyzing food aroma. - New York: Dekker, 1997
- KARAGIANNIS, S., ECONOMOU, A. and LANARIDIS, P. 2000: Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. 'Muscat Lefko' grapes from the island of Samos. J. Agric. Food Chem. 48(11): 5369-5373
- MASSON, G., PUECH, J.-L. MOUTOUNET, M. 1996: Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. Bull. O.I.V. 69: 634-657
- PEREZ-COELLO, M.S., SANZ, J. and CABEZUDO, M.D. 1999: Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak wood. Am. J. Enol. Vitic. 50(2): 162-165
- PUECH, J.L. 1987: Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. Am. J. Enol. Vitic. 38(3): 236-238
- ROUS, C. and ALDERSON, B. 1983: Phenolic extraction curves for white wine aged in French and American oak barrels. Am. J. Enol. Vitic. 34(4): 211-215
- SEFTON, M.A., FRANCIS, I.L. and WILLIAMS, P.J. 1990: Volatile norisoprenoid compounds as constituents of oak woods used in wine and spirit maturation. J. Agric. Food Chem. 38(11): 2045-2049
- TOWEY, J.P. and WATERHOUSE, A.L. 1996a: Barrel-to barrel variation of volatile oak extractives in barrel-fermented 'Chardonnay'. Am. J. Enol. Vitic. 47(1): 17-20
- TOWEY, J.P. and WATERHOUSE, A.L. 1996b: The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in 'Chardonnay' during three successive vintages. Am. J. Enol. Vitic. 47(2): 163-172
- VAN WYK, C.J. and ROGERS, I.M. 2000: A "phenolic" off-odour in white table wines : causes and methods to diminish its occurrence. S. Afr. J. Enol. Vitic. 21(1): 52-57
- WATERHOUSE, A.L. and TOWEY, J.P. 1994: Oak lactone isomer ratio distinguishes between wines fermented in American and French oak barrels. J. Agric. Food Chem. 42(9): 1971-1974
- WHITON, R.S. and ZOECKLEIN, B.W. 2000: Optimization of headspace solid-phase microextraction for analysis of wine aroma compounds. Am. J. Enol. Vitic. 51(4): 379-382

Manuskript eingelangt am 19. April 2002