

## BESTIMMUNG VON 2-AMINOACETOPHENON MIT HS-SPME UND GC-MS

WALTER BRANDES und REINHARD BAUMANN

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau  
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74  
E-Mail: Walter.Brandes@weinobst.at

Die analytische Absicherung von Weinfehlern durch die Bestimmung bekannter Schlüsselsubstanzen stellt eine wertvolle Ergänzung zur Sensorik dar. Auf Grund der teilweise sehr niederen Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte dieser Substanzen ist die Herausforderung für eine erfolgreiche Analytik allerdings beträchtlich. Für die Quantifizierung von 2-Aminoacetophenon (2-AAP), der Leitsubstanz für die "Untypische Alterungsnote" (UTA), wurden eine Derivatisierungstechnik für die Festphasenmikroextraktion entwickelt und anschließend die wichtigsten Kenndaten für die Analytik erhoben. Die sichere Bestimmung von 2-AAP bis zu Konzentrationen von wenigen ng/l ist auf Grund der hohen Sensitivität der Methode möglich. Der deutliche Matrixeffekt zwingt jedoch unter Berücksichtigung eines möglichst kleinen Arbeitsaufwandes zu isopenmarkiertem 2-AAP als internem Standard.

**Schlagwörter:** UTA, 2-Aminoacetophenon, Sandmeyer-Reaktion, SPME

**Determination of 2-aminoacetophenone by means of HS-SPME and GC-MS.** The analytical validation of wine disorders by determining known key substances represents a valuable complementary method to the sensory evaluation. Due to some very low odor and taste thresholds of these the challenge for a successful analysis is considerably high. For the quantification of 2-aminoacetophenone (2-AAP), the key substance for the "untypical aging disorder" (UTA), a derivatization technique for solid phase microextraction was developed, and then the most important data for analysis were monitored. The valid determination of 2-AAP as far as concentrations of a few ng/l is possible due to the high sensitivity of the method. However, considering the smallest possible amount of work, the significant matrix effect requires isotope-labeled 2-AAP as an internal standard.

**Keywords:** UTA, 2-aminoacetophenone, Sandmeyer reaction, SPME

Das von RAPP et al. (1993) identifizierte 2-Aminoaceto-phenon (2-AAP) gilt als Leitsubstanz für den als "Untypische Alterungsnote" (UTA) bezeichneten Weinfehler (FOX, 2000). Obwohl eine Reihe weiterer Weinparameter einen modifizierenden Einfluss haben (GESSNER et al., 1995) ist die Korrelation zwischen UTA und 2-AAP hochsignifikant (CHRISTOPH et al., 1995). Als Vorläufersubstanz gilt 3-Indolessigsäure, das durch Sauerstoffradikale unter der Mitwirkung von Schwefeldioxid zu 2-AAP abgebaut wird (SCHNEIDER, 2014; HOENICKE et al., 2002; HÜHN et al., 1999; CHRISTOPH et al., 1998). Ascorbinsäure, ein bekannter Radikalfänger, kann diese Reaktion wesentlich verringern (GESSNER et al., 1999; KÖHLER und GESSNER, 2000). Die Neigung zur Ausbildung von UTA ist bei früher Lese und gestresstem Traubenmaterial besonders hoch (SCHWAB et al., 1999; SPONHOLZ et al., 1997; KÖHLER et al., 1995; WOHLFARTH, 1995). Der Schwellenwert für die sensorische Wahrnehmung von UTA wird in Abhängigkeit von Weinmatrix und Koster zwischen 0,5 und 1,5 µg/l 2-AAP angegeben (RAPP et al., 1995; GESSNER et al., 1995). Die analytische Absicherung von mit UTA bestandenen Weinen bedarf demnach Methoden, die diese geringen Konzentrationen problemlos messen können. Entsprechend dem damaligen Stand der Technik benutzten die ursprünglichen Analysenmethoden Extraktionstechniken mit organischen Lösungsmitteln und anschließender Einengung der Extrakte (RAPP und VERSINI, 1995; CHRISTOPH et al., 1995; CHRISTOPH et al., 1998; DOLLMANN et al., 1996). Der Zeitaufwand pro Probe ist dabei beträchtlich, und die Probenaufarbeitung ist schlecht für Serienuntersuchungen geeignet. Mit der Entwicklung der Solid Phase Microextraktion (SPME) wurde der Gaschromatographie ein sehr leistungsfähiges Probenaufgabesystem zur Reduzierung von Probenmenge und Zeit zur Verfügung gestellt und erfolgreich für die Bestimmung von 2-AAP angewendet (GULAN und ARZBERGER, 2008; FAN et al., 2007; MIHALJEVIC ZULJ, 2015). Neben einer Reihe von Vorteilen weist die SPME auch einige Nachteile auf, die bei der Analytik berücksichtigt werden müssen. Hauptproblem ist das sehr ungünstige Phasenverhältnis, da je nach verwendeter Faser nur maximal etwa 1 µl "Extraktionsphase" einer Probenmenge mit dem mindestens 2000-fachen Volumen gegenübersteht. Es bedarf daher sehr hoher Verteilungskoeffizienten zur Erreichung entsprechender

Empfindlichkeiten. Ein weiterer Nachteil des Phasenverhältnisses ist die hohe Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten von der Zusammensetzung der Probe. Matrixeffekte treten bei SPME-Methoden vergleichsweise häufig auf. Exakte Messungen bedürfen dann entweder Standardadditionen und des damit verbundenen deutlich erhöhten Messaufwands oder der Verwendung von isotope markierten Analyten als internem Standard in Verbindung mit einer massenspektrometrischen Detektion. Isotope markierte Verbindungen sind jedoch nur bei einer begrenzten Anzahl von Substanzen erhältlich und außerdem mit einem beträchtlichen Kostenfaktor verbunden. Eine deutliche Verbesserung des Phasenverhältnisses und damit verbundener Reduzierung der oben angeführten Probleme tritt bei der Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)-Methode zur Anreicherung von Analyten auf. Obwohl diese Technik für die Bestimmung von 2-AAP gut geeignet ist (KOSMERL und ZLATIC, 2009), treten auch hier einige Schwierigkeiten auf. So ist der apparative Aufwand durch die Notwendigkeit einer Thermodesorptionseinheit und eines PTV-Injektors wesentlich größer. Außerdem erfordern die Reinigung und Rekonditionierung der für die Extraktion verwendeten Rührstäbchen einen nicht unbeträchtlichen Zeitaufwand, da es sich hierbei um eine Immersionstechnik handelt und eine Anreicherung thermisch nicht desorbierbarer Verbindungen auf dem Extraktionsrührstab unvermeidlich ist. Im Vergleich dazu benötigt die SPME-Technik keine zusätzlichen Anschaffungen, und Headspace-Messungen sind problemlos möglich.

Auffallend bei der Analytik von 2-AAP ist das nahezu vollständige Fehlen von Derivatisierungstechniken zur Verbesserung der Anreicherungs- und Detektionseigenschaften, obwohl eine Derivatisierung der Amino-Gruppe und die daraus resultierende Polaritätsverringerng durchaus größere Anreicherungen bei SPME- oder SBSE-Methoden wahrscheinlich machen. Der Hauptgrund hierfür ist in den Reaktionsbedingungen für die Derivatisierung der Aminogruppe, die in der Regel nur in aprotischen Lösungsmitteln mit befriedigenden Ausbeuten verläuft, zu suchen. Demnach müsste das 2-AAP zuerst aus dem Wein mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert, das Lösungsmittel getrocknet und nach der Derivatisierung das Lösungsmittel wieder möglichst vollständig entfernt werden, um die Kompatibilität mit

SPME oder SBSE herzustellen.

Eine Ausnahme unter den Derivatisierungstechniken von aromatischen Aminen stellt die Diazotierung dar. Diese erfolgt in rein wässrigen Lösungen, und aus den resultierenden Diazoniumsalzen sind über den weiteren Kreis der Sandmeyer-Reaktion eine Vielzahl von Derivaten herstellbar. Für die SPME in Verbindung mit GC-MS sind vor allem die Jodderivate auf Grund folgender Vorteile von besonderem Interesse.

1. Ihre Herstellung benötigt keine Katalyse durch Cu(I)-Salze.
2. Ihre Polarität ist vergleichsweise sehr gering.
3. Durch das hohe Atomgewicht von Jod ergibt sich bei massenspektrometrischer Detektion ein Shift in einen Bereich, der wesentlich weniger Interferenzen verspricht.

Nachteilig ist der Verlust des Stickstoffatoms, da hiermit die Verwendung eines NPD-Detektors hinfällig wird. Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Bestimmungsmethode für 2-AAP unter Verwendung der SPME-Technik.

## MATERIAL UND METHODEN

### PROBEN

Als Weinproben wurden verschiedene Weiß- und Rotweine der Sorten 'Grüner Veltliner', 'Rheinriesling', 'Weißer Burgunder', 'Welschriesling', 'Zweigelt' ('Rotburger') und 'St. Laurent' der Jahrgänge 2010 bis 2013 verwendet.

### CHEMIKALIEN

Schwefelsäure 98 % p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Methanol p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Ethanol p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), tert-Butylmethylether p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Jodwasserstoffsäure 57 % extra pure (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Natriumnitrit p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Harnstoff p.A. (Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland), Natriumsulfit p.A. (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland), Kaliumcarbonat p.A. (Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland), 2-Aminoacetophenon (Fa. Sigma Aldrich, St.

Louis, USA) und 3-Aminoacetophenon (Fa. Sigma Aldrich, St. Louis, USA).

Als SPME-Fasern wurden 65 µm PDMS/DVB, 100 µm PDMS und 85 µm Polyacrylat (alle: Fa. Supelco, Bellefonte, USA) verwendet.

### MESSINSTRUMENTE

Alle Analysen wurden auf einem Gaschromatographen 7890A mit massenselektivem Detektor 5975C MSD (beide: Fa. Agilent, Santa Clara, USA) und Probengeber Combipal (Fa. CTC Analytics, Zwingen, Schweiz) durchgeführt.

### PROBENVORBEREITUNG

7 ml Probe werden in einem Zentrifugenröhrchen mit 70 µl Internem Standard (100 µg/l 3-Aminoacetophenon in Ethanol) versetzt und gemischt. Nach Zugabe von 1 ml tert-Butylmethylether und 3 g Kaliumcarbonat wird das Röhrchen verschlossen und bis zur völligen Auflösung des Salzes geschüttelt und anschließend 5 min bei 6000 rpm zentrifugiert. Die organische Phase wird abgehoben und nach Zugabe von 100 µl 1 % Schwefelsäure in Methanol am Rotationsverdampfer auf ca. 200 µl eingengt. Der Rückstand wird in 4 ml Wasser gelöst, und die Lösung wird anschließend vorsichtig in ein Reagenzglas geleert. Die Derivatisierung erfolgte nach folgendem Schema:

1. Zugabe von 100 µl Jodwasserstoffsäure 57 % und mischen
2. Zugabe von 100 µl Natriumnitritlösung (50 g/l in Wasser), mischen und 20 min bei Raumtemperatur stehenlassen
3. Zugabe von 250 µl Harnstofflösung (50 g/l in Wasser), mischen und 5 min bei 75 °C im Heizblock erwärmen
4. Abkühlen auf Raumtemperatur
5. Zugabe von 150 µl Natriumsulfitlösung (200 g/l in Wasser) und mischen
6. Zugabe von 400 µl Kaliumcarbonat (300 g/l in Wasser) und mischen
7. Lösung in ein 20 ml Vial mit 2 g Natriumchlorid leeren, mit Teflonseptum verschließen und anschließend für die Messung verwenden

## MESSBEDINGUNGEN

SPME-Bedingungen: 30 min im Headspace bei 80 °C  
 GC-Trennsäule: ZB-5, 60 m Länge, 0,25 mm ID, Filmdicke 0,25 µm (Fa. Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland)  
 Gasfluss: 1,0 ml/min konstant  
 Injektortemperatur: 260 °C  
 Injektion: splitless 3 min  
 Temperaturprogramm:

Initialtemperatur 50 °C, Haltezeit 3 min  
 Heizen mit 14 °C/min auf 140 °C, Haltezeit 0 min  
 Heizen mit 3,5 °C/min auf 180 °C, Haltezeit 0 min  
 Heizen mit 50 °C/min auf 260 °C, Haltezeit 7,5 min

Transferlinientemperatur: 260 °C  
 MS-Parameter: Messung im single ion monitoring, wobei sowohl für 2-AAP als auch den Internen Standard die Ionen 203, 231 und 246 aufgenommen wurden.

## KALIBRATION

Die Kalibration erfolgte sowohl in 13-%igem Ethanol im Konzentrationsbereich von 100 bis 2000 ng/l als auch in unterschiedlichen Weiß- und Rotweinen, deren nativer Gehalt an 2-AAP mittels Standardaddition ermittelt wurde.

## ERMITTLUNG DER OPTIMALEN SPME-BEDINGUNGEN

Alle analytischen Kenndaten der SPME wurden aus dem Mittelwert einer Doppelbestimmung errechnet. Für die Bestimmung der optimalen Extraktionstemperatur wurden Standardlösungen mit einer Konzentration von 1 µg/l bei 50, 60, 70 und 80 °C bei einer Extraktionszeit von 30 min gemessen.

Die Ermittlung der Kinetik der Anreicherung auf der SPME-Faser erfolgte durch Messung von Standardlösungen mit einer Konzentration von 1 µg/l bei 80 °C und 5, 10, 15, 20, 30, 45 und 60 min Extraktionszeit. Die Berechnung der zugrundeliegenden Funktion erfolgte durch Zielwertoptimierung mit Hilfe des Excel-Tools Solver.

Der Anreicherungsfaktor auf der Faser wurde mittels

Depletions-SPME durch achtmalige Extraktion einer Standardlösung der Konzentration 1 µg/l bei 80 °C und 30 min Extraktionszeit ermittelt.

Der Einfluss der Salzzugabe wurde durch Vergleichsmessungen einer Standardlösung der Konzentration 1 µg/l mit und ohne Natriumchlorid bei 80 °C und 30 min Extraktionszeit bestimmt.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Der pH-Wert der Probelösungen nach Zugabe der Jodwasserstoffsäure liegt bei ca. 0,7 und damit in einem Bereich, bei dem eine Kupplung von Diazoniumsalz mit noch nicht diazotiertem 2-AAP oder anderen aromatischen Aminen weitgehend ausgeschlossen ist. Nach Zugabe der Natriumnitritlösung färbt sich die Lösung rotbraun, da durch die salpetrige Säure teilweise auch das Jodid zum Jod oxidiert wird. Ein etwaiger Überschuss von salpetriger Säure wird durch Harnstoff beseitigt. Das ausgeschiedene Jod wird durch Sulfit wieder quantitativ zum Jodid reduziert. Für die Neutralisation der Lösung auf einen für die Faser verträglichen Wert wurden Kaliumcarbonat und der daraus resultierende pH-Wert von etwa 10,5 als die beste Variante gefunden. Der Grund liegt in der in Weinen im mg/l-Bereich vorliegenden Decansäure, die im Bereich des 2-Jodacetophenons eluiert und auf Grund ihrer hohen Konzentration einerseits zu einem unspezifischen Anstieg der Basislinie, und andererseits durch Überladung der Faser zu teilweise vermindertem Response führte. Die bei pH 10,5 vollständig als nicht flüchtiges Salz vorliegende Säure verursachte dagegen keinerlei Probleme.

Obwohl eine direkte Derivatisierung im Wein möglich erscheint, wurde aus verschiedenen Gründen bei dieser Arbeit darauf verzichtet. Einerseits verringern organische Lösungsmittel, wie etwa der Alkoholgehalt, generell die Empfindlichkeit von SPME-Extraktionen, und andererseits sind mit Ethanol als Reaktionspartner von Diazoniumsalzen eine Reihe von Nebenreaktionen, wie Reduktionen oder Etherbildung, bekannt. Die Zugabe der methanolischen Schwefelsäure vor dem Eindampfen der Extrakte verhindert etwaige Verluste des Analyten, da dieser vollständig in das nichtflüchtige Salz überführt wird. Der Zeitbedarf pro Probe für die vorgeschaltete Extraktion reduziert sich bei Serienanalysen, wenn zur Entfernung des organischen Lösungsmittels Luft im Blockthermostat aufgeblasen wird, beträchtlich.

## FASERSELEKTION

2-Jodacetophenon, das Derivatisierungsprodukt von 2-AAP, ist eine relativ unpolare Verbindung mit mehreren Doppelbindungen. Daher sind bei den SPME-Fasern vor allem die unpolaren Phasen für die Extraktion interessant. Abbildung 1 zeigt die deutliche Überlegenheit der PDMS-DVB-Faser bei der Anreicherung von Analyten mit Doppelbindungen, insbesondere von Aromaten. Die hohe Extraktionseffizienz ist vor allem auf Wechselwirkungen zwischen den  $\pi$ -Elektronensystemen zurückzuführen. Im Vergleich dazu erreicht die Polyacrylatfaser nur etwa 25 % und die PDMS-Faser überhaupt nur knappe 5 % der Empfindlichkeit. Aus diesem Grund wurde für alle weiteren Versuche die PDMS-DVB-Faser verwendet.

## EXTRAKTIONSTEMPERATUR

Steigende Extraktionstemperaturen verbessern den Response, der bei 80 °C am größten war (Abb. 2). Ein lokales Maximum wurde bei den hier gewählten Bedingungen jedoch nicht beobachtet. Versuche mit noch höheren Temperaturen wurden zur Schonung der verwendeten SPME-Fasern nicht vorgenommen. Die ermittelte Temperaturabhängigkeit macht es wahrscheinlich, dass mit der Immersionstechnik (bei entsprechend tieferen Temperaturen) noch höhere Empfindlichkeiten möglich sind. Höhere Temperaturen dienen bei der Headspace-SPME ja ausschließlich zur Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung zwischen flüssiger Phase, Dampfraum und SPME-Faser, während der Anreicherungsfaktor selbst im Gleichgewicht bei tieferen Temperaturen größer wird. Die Immersion führt allerdings je nach Matrixbelastung der Probe durch Anreicherung thermisch nicht desorbierbarer Substanzen meist zu einer deutlich verringerten Lebensdauer der Faser, so dass hier darauf verzichtet wurde.

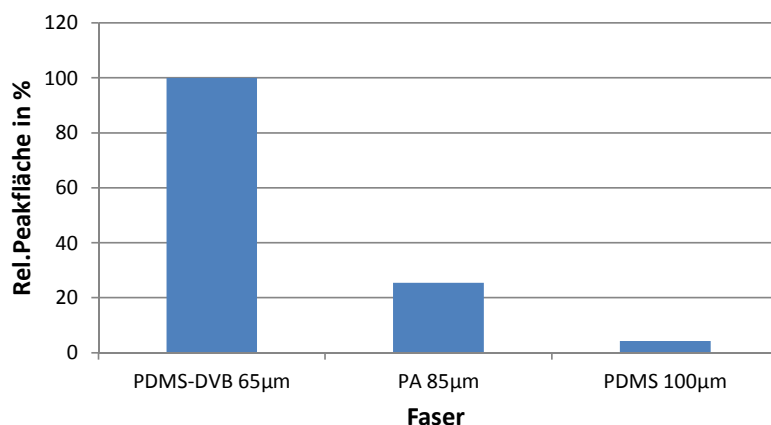


Abb. 1: Vergleich der relativen Peakflächen bezogen auf den höchsten Wert bei Verwendung unterschiedlicher Fasertypen bei 80 °C Extraktionstemperatur und 30 min Extraktionszeit

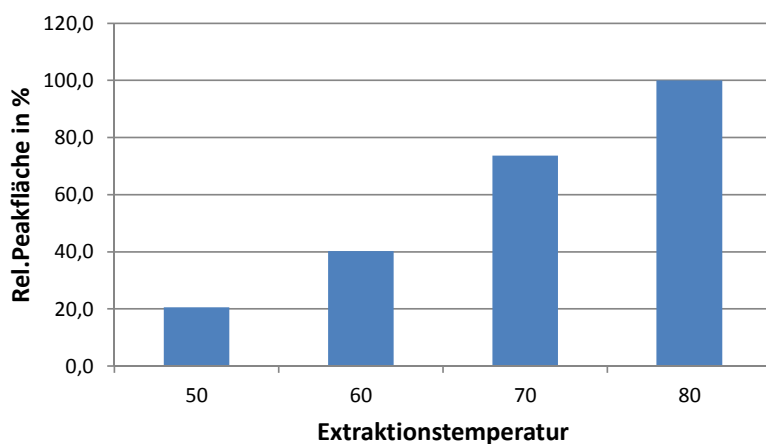


Abb. 2: Vergleich der relativen Peakflächen bezogen auf den höchsten Wert mit der 65 µm PDMS-DVB-Faser bei unterschiedlichen Extraktionstemperaturen und 30 min Extraktionszeit

**SALZZUGABE**

Die Zugabe von Salz zur Probelösung vor der SPME führt in den meisten Fällen durch Polaritätserhöhung des Lösungsmittels zu einer Steigerung der Empfindlichkeit. Im Gegensatz zur Immersionstechnik ergibt

sich durch anorganische Salze bei der Headspace-Technik kein negativer Effekt auf die SPME-Faser. Wie aus Abbildung 3 ersichtlich, erhöht die Natriumchlorid-Zugabe die Empfindlichkeit um mehr als das Fünffache.

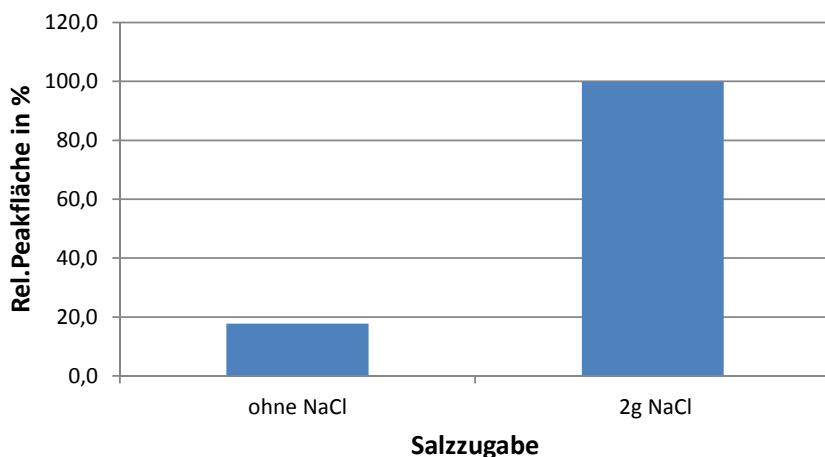


Abb. 3: Vergleich der relativen Peakflächen bezogen auf den höchsten Wert mit der 65 µm PDMS-DVB-Faser bei 80 °C Extraktionstemperatur und 30 min Extraktionszeit mit und ohne NaCl-Addition

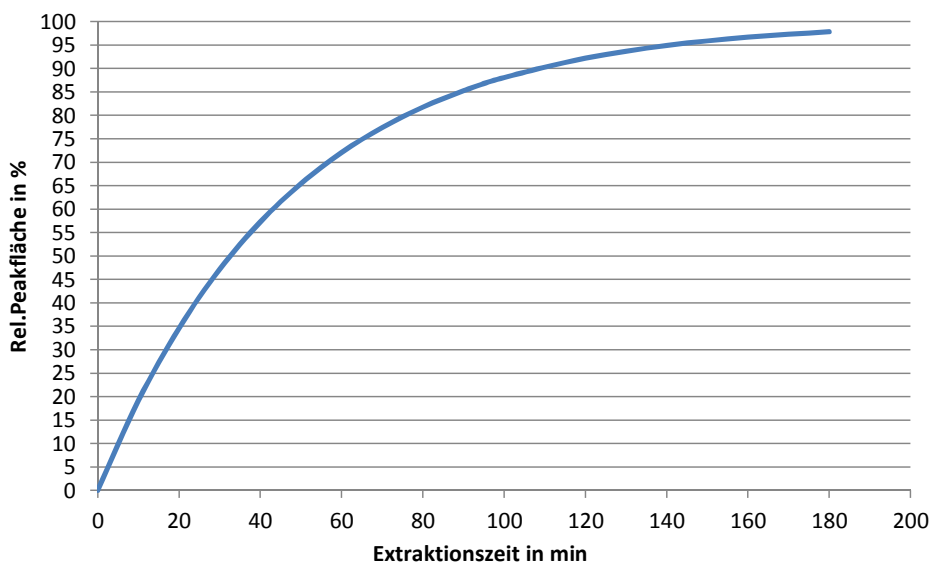


Abb. 4: Kinetik der Anreicherung auf der 65 µm PDMS-DVB-Faser bei 80 °C Extraktionstemperatur

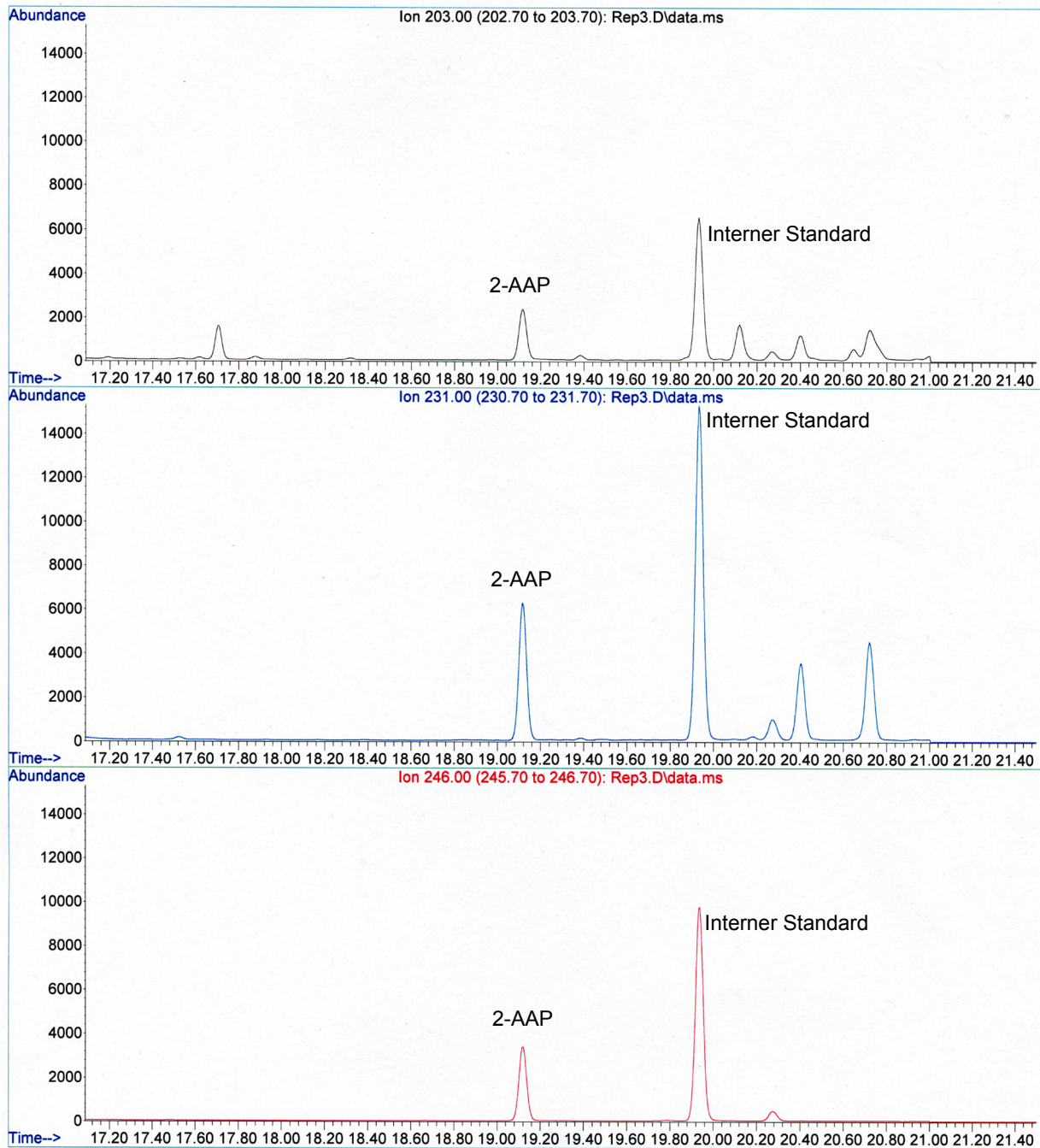


Abb. 5: Extrahierte Ionenspuren 203, 231 und 246 des Chromatogramms einer Weißweinprobe mit ca. 500 ng/l 2-AAP

## EXTRAKTIONSZEIT

Längere Extraktionszeiten führen in der Regel, wenn nicht sekundär eine Verdrängung der Analyten durch andere Substanzen erfolgt, zu höheren Empfindlichkeiten. Die Kinetik der Anreicherung ist grundsätzlich eine Reaktion 1. Ordnung. Während die entsprechende mathematische Funktion in Bezug auf das Verschwinden eines Ausgangsproduktes durch Logarithmieren problemlos linearisierbar und damit einer Regression zur Bestimmung der Kinetik zugänglich ist, ist die entsprechende Funktion zur Bildung eines Produktes diesem Prozess nicht zugänglich. Stattdessen wurde die Funktion näherungsweise durch iterative Zielwertoptimierung ermittelt. Theoretisch erreicht die Anreicherung auf der Faser erst nach unendlich langer Zeit ein Maximum. Unter Berücksichtigung eines analytischen Fehlers von 5 % wurde als Maximum 95 % des theoretischen Endwertes genommen. Die ermittelte Funktion ist in Abbildung 4 dargestellt. Wie aus der Temperaturabhängigkeit des Responses bereits vermutet werden konnte, verläuft die Anreicherung selbst bei 80 °C sehr langsam und erreicht erst nach etwa 140 min das Maximum. Außerdem ergibt sich aus der Funktion, dass bei 30 min Extraktionszeit nur etwa die Hälfte der maximal möglichen Empfindlichkeit genutzt wird. Der geschwindigkeitsbestimmen-

de Schritt dieser Analytik ist daher die SPME, während chromatographisch noch kürzere Analysenzeiten möglich wären.

## EFFIZIENZ DER SPME

Der Anreicherungsfaktor auf der Faser erfolgte über die Bestimmung der Extraktionsrate (Abb. 6). Als solche wird jener Teil des insgesamt in der Probe vorhandenen Analyten definiert, der von der Faser bei den gewählten Bedingungen aufgenommen wird. Sie ist im Gegensatz zum Verteilungskoeffizienten nicht nur für Gleichgewichtsbedingungen definiert. Die gewählten Bedingungen ergaben einen hypothetischen Verteilungskoeffizienten (bei 30 min Extraktionszeit) von 7100. Dieser hohe Wert ist ein wesentlicher Faktor für die ausgezeichnete Empfindlichkeit des Verfahrens. Wie bereits erwähnt, sind Verteilungskoeffizienten nur für Gleichgewichtsbedingungen definiert, und außerdem ist der zugrundeliegende Prozess bei der PDMS-DVB-Faser nicht Absorption, sondern Adsorption. Die verwendeten Bezeichnungen sind daher streng genommen nicht richtig, sondern dienen lediglich der Veranschaulichung.

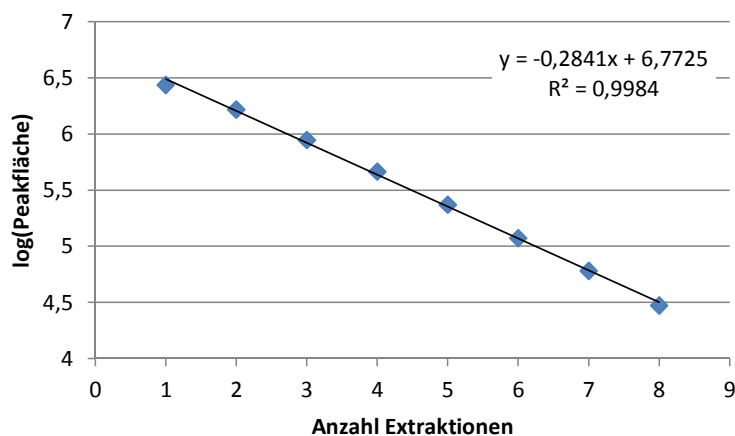


Abb. 6: Mehrfache Extraktion einer Probe, die 2-AAP in einer Konzentration von 1 µg/l enthielt, mit einer 65 µm PDMS-DVB-Faser bei 30 min Extraktionszeit und 80 °C Extraktionstemperatur



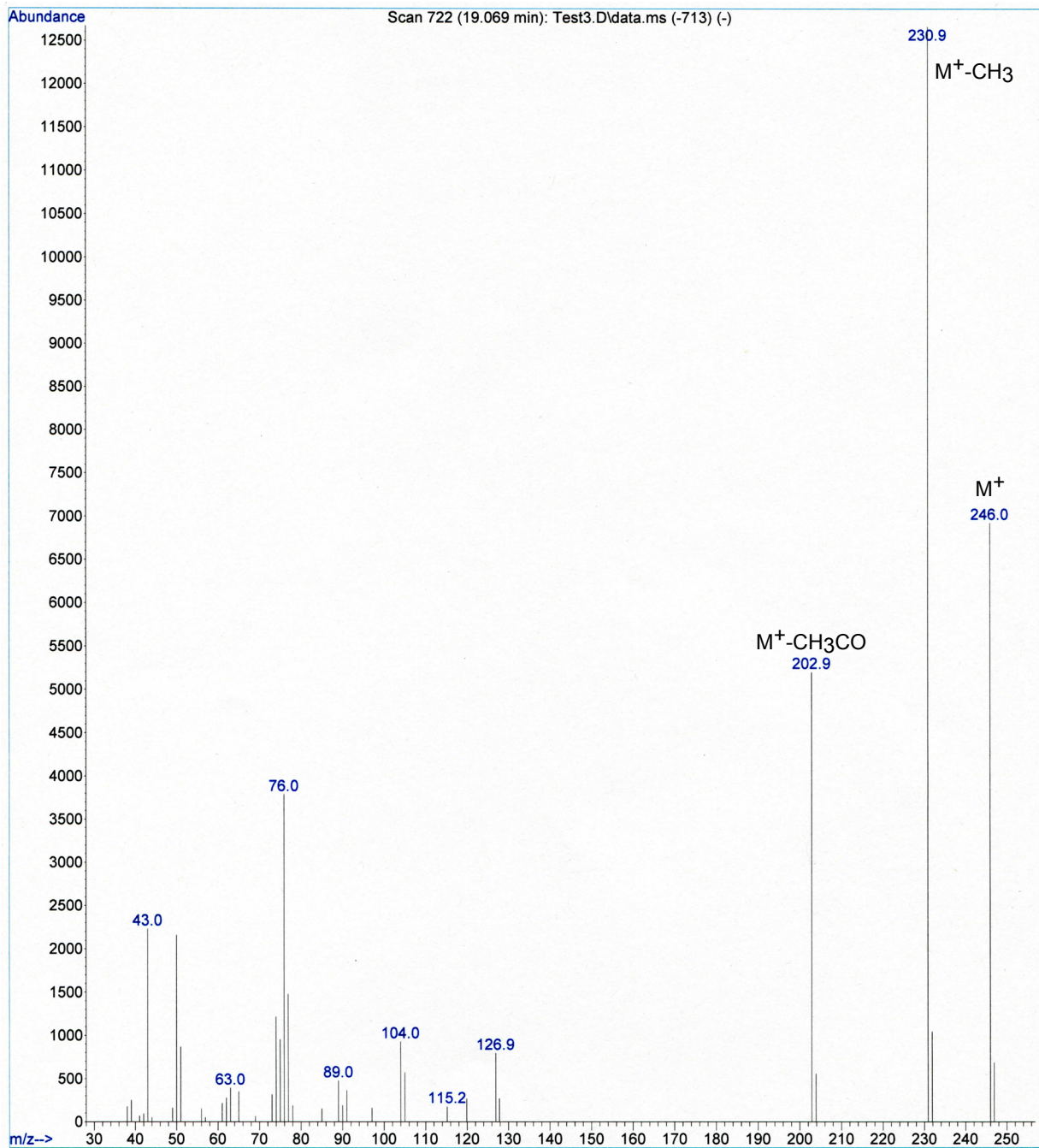


Abb. 7: Massenspektrum von 2-Jodacetophenon, aufgenommen an einem derivatisierten 2-AAP-Standard mit 1 µg/l

Tab. 1: Ergebnisse der mehrfachen Analyse einer Weiß- und einer gespikten Rotweinprobe

	Probe 1	Probe 2
1. Analyse	824	206
2. Analyse	748	204
3. Analyse	757	198
4. Analyse	845	195
5. Analyse	790	210
6. Analyse	788	228
Mittelwert	792	207
Standardabweichung	37,5	11,7
Rel. Standardabw. (%)	4,7	5,7

## CHROMATOGRAPHIE

Im Massenspektrum von 2-Jodacetophenon (Abb. 7), dem Derivatisierungsprodukt des 2-AAP, scheinen drei für die Detektion gut geeignete Ionen auf. Der Molekülpeak mit  $m/z$  246 sowie die durch alpha-Spaltung unter Eliminierung der Methyl- bzw. Acetylgruppe daraus gebildeten  $m/z$  231 und 203. Die Derivatisierung führt zu einem Massenshift in einen Bereich mit nahezu störungsfreier Detektion. Im Vergleich dazu weist das nicht derivatisierte 2-AAP als die größten für die Detektion geeignete Massen lediglich 135, 120 und 92 auf.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, ist das für die Quantifizierung verwendete Massenfragment 231 so frei von Interferenzen, dass durchaus noch höhere Aufheizraten der GC zur Verkürzung der Analysenzeit möglich wären. Noch günstiger liegt der Fall beim Molekülion 246, das jedoch nur etwa 60 % Intensität im Vergleich zu 231 aufweist.

Trotz der Verwendung des strukturell sehr eng verwandten 3-Aminoacetophenons als Internem Standard ergaben Kalibrationen direkt in verschiedenen Weiß- und Rotweinen teilweise deutlich unterschiedliche Steigungen der Kalibrationsgeraden. Der vor allem aus der SPME bekannte Matrixeffekt tritt also auch hier auf. Akkurate Messungen erfordern daher entweder Standardadditionen oder, wesentlich eleganter, die Verwendung von deuteriertem 2-AAP als Internem Standard. Günstig wäre eine Deuterierung am aromatischen Kern, da wie oben beschrieben die Methylgruppe bei der alpha-Spaltung verlorengeht und damit lediglich das Molekülion als differenzielle Masse verbleiben würde.

Die ausgezeichnete Reproduzierbarkeit des Verfahrens belegt Tabelle 1.

Die über das Signal/Rauschverhältnis ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen unter Berücksichtigung der Chromatogramme von 20 Weiß- und Rotweinproben bei 2 bzw. 6 ng/l.

Die entwickelte Methode ermöglicht die Bestimmung von 2-AAP mit einer Empfindlichkeit, die sowohl herkömmliche SPME-Techniken als auch SBSE-Techniken ca. um den Faktor 10 übertrifft. Die SPME-Fasern besitzen durch die applizierte Headspace-Technik eine lange Haltbarkeit und zeigten nach eigener Erfahrung selbst nach 200 Extraktionen kaum Empfindlichkeitsverluste. Der Zeitaufwand im Vergleich zur SBSE relativiert sich unter Berücksichtigung der Tatsache, dass hierbei die Extraktionszeit teilweise sehr groß ist und dass die Stir Bars nach jeder Analyse regeneriert werden müssen, während die SPME-Fasern nach der Desorption des Analyten im GC-Injektor sofort wieder einsatzfähig sind. Auch die notwendigen Zusatzanschaffungen beschränken sich bei der SPME-Technik lediglich auf den Probengeber, während die SBSE eine thermische Desorption und entsprechende Kühlung des Injektors benötigt. Die Auswertung der Chromatogramme ist extrem einfach, da zwei von den drei zur Verfügung stehenden Massen praktisch ohne Interferenzen sind. Nachteilig ist der deutlich vorhandene Matrixeffekt, der die Verwendung von deuteriertem 2-AAP als internem Standard für akkurate Quantifizierungen notwendig macht. Bedingt durch das ungünstige Phasenverhältnis bei der SPME ist allerdings eine Vielzahl dieser Techniken mit diesem Nachteil behaftet.

## LITERATUR

- CHRISTOPH, N., BAUER-CHRISTOPH, C., GESSNER, M. UND KÖHLER, H.J. 1995: Die „Untypische Alterungsnote im Wein“. Teil I: Untersuchungen zum Auftreten und zur sensorischen Charakterisierung der „Untypischen Alterungsnote“. *Rebe und Wein* (9): 350-356
- CHRISTOPH, N., BAUER-CHRISTOPH, C., GESSNER, M., KÖHLER, H.J., SIMAT, T.J. UND HOENICKE, K. 1998: Bildung von 2-Aminoacetophenon und Formylaminoacetophenon im Wein durch Einwirkung von schwefeliger Säure auf Indol-3-Essigsäure. *Vitic. Enol. Sci.* 53(2): 79-86
- DOLLMANN, B., SCHMITT, A., KÖHLER, H. UND SCHREIER, P. 1996: Zur Entstehung des „untypischen Alterstones“ in Wein: Bildung von 2-Aminoacetophenon in Modellstudien mit *Saccharomyces cerevisiae*. *Vitic. Enol. Sci.* 51(2): 122-125
- FAN, W., TSAI, I.-M. AND QIAN, M.C. 2007: Analysis of 2-Aminoacetophenone by direct-immersion solid-phase microextraction and gas-chromatography-mass spectrometry and its sensory impact in Chardonnay and Pinot gris wines. *Food Chem.* 105: 1144-1150
- FOX, R. 2000: UTA? Später Lesetermin! *Dt. Weinbau* (14): 18-19
- GESSNER, M., KÖHLER, H.J. UND CHRISTOPH, N. 1999: Die „untypische Alterungsnote“ im Wein. Teil VIII: Auswirkungen von Inhaltsstoffen und Antioxidantien auf die Bildung von o-Aminoacetophenon. *Rebe und Wein* (8): 264-267
- GESSNER, M., KÖHLER, H.J., CHRISTOPH, N., BAUER-CHRISTOPH, C., MILTENBERGER, R. UND SCHMITT, A. 1995: Die „Untypische Alterungsnote im Wein“. Teil II: Beschreibende Verkostung von UTA-Weinen; Beziehungen zwischen Sensorik und chemisch-physikalischen Analysenwerten. *Rebe und Wein* (11): 388-394
- GULAN, S. AND ARZBERGER, U. 2008: Quantification of 2-aminoacetophenone in white wine by Headspace Solid Phase Micro Extraction and Gas-Chromatography-Mass Spectrometry. *Dt. Lebensm.-Rundsch.* 104(11/12): 41-46
- HOENICKE, K., SIMAT, T.J., STEINHART, H., CHRISTOPH, N., GESSNER, M. AND KÖHLER, H.J. 2002: “Un-typical aging off-flavor” in wine: formation of 2-aminoacetophenone and evaluation of its influencing factors. *Anal. Chim. Acta* 458: 29-37
- HÜHN, T., SPONHOLZ, W.R. UND GROSSMANN, M. 1999: Freisetzung unerwünschter Aromastoffe aus Pflanzenhormonen bei der alkoholischen Gärung. *Vitic. Enol. Sci.* 54(14): 105-113
- KÖHLER, H.J. UND GESSNER, M. 2000: Vermeidung der „Untypischen Alterungsnote“ durch Ascorbinsäure. *Schweiz. Z. Wein- und Obstbau* (10): 213-216
- KÖHLER, H.J., CHRISTOPH, N., GESSNER, M. und Bauer-Christoph, C. 1995: Die „Untypische Alterungsnote im Wein“. Teil III: Zusammenhänge zwischen dem Auftreten der „Untypischen Alterungsnote“ und dem Reifestadium der Trauben (Lesetermin). *Rebe und Wein* (12): 424-430
- KOSMERL, T. AND ZLATIC, E. 2009: Determination of 2-aminoacetophenone in wines using the Stir Bar Sorptive Extraction method coupled with GC-MS and GC-NPD. *Mitt. Klosterneuburg* 59: 121-126
- MIHALJEVIC ZULJ, M., MASLOV, L., TOMAZ, I. AND JEROMEL, A. 2015: Determination of 2-aminoacetophenone in white wines using ultrasound assisted SPME coupled with GC-MS. *J. Anal. Chem.* 70(7): 814-818
- RAPP, A. UND VERSINI, G. 1995: Fehlaroma: Die untypische Alterungsnote. *Dt. Weinbau* (18): 18-22
- RAPP, A., VERSINI, G. UND ENGEL, L. 1995: Nachweis und Bestimmung von 2-Aminoacetophenon in vergorenen Modelllösungen. *Vitis* 34(3): 193-194
- RAPP, A., VERSINI, G. AND ULLEMAYER, H. 1993:

- 2-Aminoacetophenone: The causal agent of the untypical aging flavor (naphthalene note or hybrid note) of wine. *Vitis* 34: 61-62
- SCHNEIDER, V. 2014: Atypical aging defect: Sensory discrimination, viticultural causes, and enological consequences. A review. *Am. J. Enol. Vitic.* 65(3): 277-284
- SCHWAB, A., CHRISTOPH, N., KÖHLER, H.J., GESSNER, M. UND SIMAT, T.J. 1999: Einfluß weinbaulicher Maßnahmen auf die Ausprägung der untypischen Alterungsnote bei Weißweinen. Teil I: Einfluß des Lesezeitpunktes. *Vitic. Enol. Sci.* 54(4): 114-120
- SPONHOLZ, W.R., HÜHN, T., ENGELMANN, A. UND SIBEN, A. 1997: Mögliche Einflüsse weinbaulicher Parameter auf die Ausbildung des „Untypischen Alterungsstons“ bei Rieslingweinen. *Vitic. Enol. Sci.* 52(1): 41-50
- SCHWAB, A., CHRISTOPH, N., KÖHLER, H.J., GESSNER, M. UND SIMAT, T.J. 1999: Einfluß weinbaulicher Maßnahmen auf die Ausprägung der untypischen Alterungsnote bei Weißweinen. Teil I: Einfluß des Lesezeitpunktes. *Vitic. Enol. Sci.* 54(4): 114-120
- WOHLFARTH, P. 1995: Untypische Alterungsnote: Erfahrungen aus den vergangenen drei Jahren. *Bad. Winzer* (8): 383-388
- Eingelangt am 2. Oktober 2015