

Analyse von (Poly-)Phenolen in kommerziell erhältlichen Rotweinen via LC-MS

GERRIT HERMANN¹, LEONHARD JAITZ¹, CHRISTOPH SCHMÖLZER, GUNDA KOELLENSPERGER¹,
REINHARD EDER² und STEPHAN HANN¹

¹ Universität für Bodenkultur, Department für Chemie, Abteilung für Analytische Chemie
A-1190 Wien, Muthgasse 18
E-Mail: Stephan.Hann@boku.ac.at

² Lehr- und Forschungszentrum für Wein- und Obstbau Klosterneuburg
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: reinhard.eder@weinobst.at

Ziel der Arbeit war es zu verifizieren, ob die Quantitäten in einem aus 20 ausgewählten Phenolen bestehenden Profil für die geographische und sortenspezifische Charakterisierung von 50 kommerziell erhältlichen Rotweinen, mit speziellem Fokus auf die Weinregion Wien, verwendet werden können. Die Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung einer schnellen, reproduzierbaren Methode für die chromatographische Trennung der Phenole, der genauen Quantifizierung der Phenole über Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie und der Datenauswertung mittels Diskriminantenanalyse und ihrer Interpretation. Als Trennmethode wurde die Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigchromatographie (RP-HPLC) verwendet. Nach der Untersuchung von mehreren Säulenmaterialien, wurde ein Säulenmaterial mit einem Partikeldurchmesser von 1,8 µm ausgewählt. Das Material setzte sich gegen die anderen durch, da es in Hinsicht auf die wichtigsten Kennzahlen für chromatographische Trennungen (Kapazitätsfaktor, Trennstufenhöhe und chromatographische Auflösung) die besten Ergebnisse hervorbrachte. Die Detektion erfolgte mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer, ausgerüstet mit Electro-Spray-Ionisation-Interface (ESI) als Ionisationsmethode. Aufgrund seiner niedrigeren Signal-Rausch-Rate und der höheren linearen und dynamischen Reichweite wurden die finalen Messungen auf dem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer durchgeführt. Die statistische Untersuchung der Messergebnisse ergab, dass die meisten Weine in Übereinstimmung mit ihrer geographischen Herkunft und Rebsorte richtig gruppiert werden konnten. Es war sogar möglich, verschiedene Produzenten in der Weinregion Wien richtig zu gruppieren.

Schlagwörter: Wein, LC-MS, Phenole, Authentifizierung

Analysis of (poly-)phenols in commercially available red wines by means of LC-MS. Our aim was to verify if quantities in a selected phenolic profile, consisting of 20 phenols, can be used for geographical allocation and varietal specific characterisation of 50 commercially available red wines, with special interest in wines from the region of Vienna. The first task was the development of a fast, reproducible and accurate method for the chromatographic separation of (poly)phenols. The second task was their quantification by means of liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (LC-MS) and the third task was data analysis by means of discriminant statistical methods. The used separation method was reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). After the examination of several column materials our choice was a material with a particle size of 1.8 µm. It was superior to other samples regarding the most important characteristics for HPLC separation (capacity factor, height of a theoretical plate and chromatographic resolution). The detection via MS was performed on a time-of-flight and a triple quadrupole mass spectrometer, both equipped with electro spray ionization (ESI) as ionization method. The final measurements were performed with the triple quadrupole mass spectrometer, because of its higher signal to noise ratio and larger linear and dynamic range. The results of the statistical examination confirmed that most wine samples could be grouped properly according to their geographical origin and variety. It was even possible to distinguish between different producers within the region of Vienna.

Keywords: wine, LC-MS, phenols, authentication

L'analyse de (poly-)phénols dans les vins en vente dans le commerce à l'aide du LC-MS. Le présent travail avait pour but de vérifier si les quantités de phénols contenues dans un profil comprenant 20 phénols sélectionnés peuvent être utilisées pour la caractérisation géographique et spécifique aux cépages de 50 vins rouges en vente dans le commerce, une attention particulière étant prêté à la région viticole de Vienne. Le présent travail porte sur le développement d'une méthode rapide et reproductible permettant la séparation chromatographique des phénols, leur quantification exacte au moyen de la chromatographie en phase liquide associée à la spectrométrie de masse, et l'évaluation des données à l'aide de l'analyse discriminante ainsi que leur interprétation. La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) a été utilisée comme méthode de séparation. Après l'examen de plusieurs matériaux de base des colonnes, on a sélectionné un matériau dont le diamètre des particules se situe à 1,8 µm. Le matériau a prévalu sur les autres, car il a permis d'obtenir les meilleurs résultats quant aux paramètres les plus importants des séparations chromatographiques (facteur de capacité, hauteur des étages de séparation et résolution chromatographique). La détection a été effectuée au moyen d'un spectromètre de masse triple quadripôle muni d'une interface d'ionisation par électronébuliseur (ESI) comme méthode [sic] d'ionisation. Les mesures finales ont été effectuées à l'aide du spectromètre de masse triple quadripôle, étant donné que celui-ci présente un rapport signal/bruit plus faible et une gamme linéaire et dynamique plus élevée. L'analyse statistique des résultats de mesure a eu pour résultat que la plupart des vins ont pu être groupés correctement en conformité avec leur origine géographique et le cépage. Il a même été possible de grouper correctement les différents producteurs dans la région viticole de Vienne.

Mots clés : vin, LC-MS, phénols, authentification

Phenole sind Sekundärmetaboliten, die im Pflanzenreich weit verbreitet sind (HERRMANN, 1989). Aufgrund ihres ubiquitären Vorkommens in Pflanzen und Pflanzenprodukten sind Phenole omniprésente Mikrobestandteile der menschlichen Ernährung. Die Gruppe der Phenole beinhaltet etwa 8000 in Pflanzen natürlich vorkommende Stoffe, welche alle die gleiche strukturelle Eigenschaft haben, nämlich einen aromatischen Ring, welcher mindestens eine Hydroxygruppe trägt (BUCHANAN et al., 2000). Phenole können über die Anzahl ihrer Phenolringe und die strukturellen Elemente, über welche die Ringe miteinander verbunden sind, klassifiziert werden. Die für diese Untersuchung relevanten Phenole können in folgende Gruppen eingeteilt werden: Phenolcarbonsäuren, Flavonoide, Stilbene und Lignane (MANACH et al., 2004). Phenolcarbonsäuren können in zwei Subklassen unterteilt werden: Derivate der Benzoesäure und Derivate der Zimtsäure. Die Flavonoide können unterteilt werden in sechs Subklassen: Flavonole, Flavone, Isoflavone, Flavonone, Anthocyane und Flavonole (MANACH et al., 2004).

Phenole haben direkten Einfluss auf die Weinqualität. Sie bestimmen Geschmack, Komplexität und Farbe des Weins (HERNÁNDEZ et al., 2006). Das Phenolprofil von Weintrauben variiert mit Sorte, Saison und einer großen Palette von Umwelteinflüssen, wie Klima (HUBER et al., 2005), Beschaffenheit des Bodens, Anbautechnik (OTREBA et al., 2006) und Bepflanzungsdichte (JACKSON und LOMBARD, 1993). Die Phenole im Rotwein kommen aus verschiedensten

Quellen, wie der Traubenhaut, dem Samen der Trauben, der Reifung in Holzfässern und auch der Zugabe von Holz-Chips (SCHEIBLHOFER et al., 2005).

Moderater Konsum von Wein wird auch mit positiven Effekten auf die menschliche Gesundheit assoziiert. Speziell das reduzierte Risiko der Erkrankung an kardiovaskulären Gebrechen und einigen Arten von Krebs war Gegenstand von vielen epidemiologischen Untersuchungen (KLINGE et al., 2003). Die Resultate dieser Studien zeigen, dass die Substanzklasse mit dem höchsten gesundheitlichen Nutzen die Flavonoide sind, und hier im speziellen Resveratrol (EDER et al., 2001; ZÖCHLING et al., 2009). Ihre positive Wirkung wird auf ihre antioxidativen Eigenschaften und ihre Eigenschaft als Chelatbildner zurückgeführt (SHRIKHANDE, 2000; VINSON und HONTZ, 1995; HEIM et al., 2002).

Für Weinproduzenten und Vertreiber ist es sehr wichtig, dass die qualitäts- und wertrelevanten Merkmale ihres Weines richtig identifiziert und auch überprüft werden können. All dies macht die Quantifizierung von Phenolen in Wein äußerst interessant (VRHOVSEK et al., 1997). In der vorliegenden Arbeit wurden über RP-HPLC-ESI-Triple-Quadropol-Massenspektrometrie die Quantitäten der Phenole in kommerziell erhältlichen Weinen bestimmt. Die gesammelten Daten wurden über Diskriminantenanalyse statistisch dahingehend untersucht, ob eine Zuordnung nach Sorte, geographischer Herkunft und Produzent anhand des Phenolspektrums möglich ist.

Material und Methoden

Auswahl der Analyten

Die Analyten wurden in Anlehnung an vorhergehende Experimente ausgewählt, in denen Weine anhand ihres phenolischen Spektrums klassifiziert wurden (JAITZ et al., 2010). Es wurden Flavonoide, Phenolcarbonsäuren und Stilbene in das zu untersuchende Phenolspektrum integriert, um den Großteil der phenolischen Klassen abzudecken. Es wurden auch einige Stoffe mit Strukturisomeren ausgewählt (Tab. 1 und 2).

Tab. 1: Untersuchte Substanzen mit Summenformel und Masse

Name	Summenformel	Masse
Zimtsäure	C ₉ H ₈ O ₂	148,2
Epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,3
Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318,2
Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,3
Vanillinsäure	C ₈ H ₈ O ₄	168,1
Ferulasäure	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,2
Benzoessäure	C ₇ H ₆ O ₂	122,1
p-Cumarinsäure	C ₉ H ₈ O ₃	164,2
3-(Trifluoromethyl)benzoessäure	C ₈ H ₅ O ₂ F ₃	190,1
Sinapinsäure	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224,2
Kaffeensäure	C ₉ H ₈ O ₄	180,2
Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,3
Syringensäure	C ₉ H ₁₀ O ₅	198,2
2,5-Dihydroxybenzoessäure	C ₇ H ₆ O ₄	154,1
Gallussäure	C ₇ H ₆ O ₅	170,1
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	C ₈ H ₁₀ O ₂	138,2
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,2
3,4',5'-Trihydroxy- <i>trans</i> -stilben	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228,2
4-Hydroxy-3-Methoxycinnamaldehyd	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178,2
3,4',5,7-Tetrahydroxyflavon	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,2

Tab. 2: Verwendete Chemikalien und Herstellernamen

Substanzen	Hersteller
HPLC-MS Qualität Methanol und Acetonitril	Fisher Scientific, Wien, Österreich
Ameisensäure, Suprapur™, 98 - 100 % und Ammoniak, Suprapur™ 25 %	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ferulasäure, Gallussäurehydrat und Kaffeensäure	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Vanillinsäure, Benzoessäure, Sinapinsäure, 2,4 Hydroxyphenylethanol, trans-p-Cumarinsäure, Myricetin, 3,4',5,7-Tetrahydroxyflavon, trans-Resveratrol, (+)-Catechinhydrat, (-)-Epicatechin	Fluka, Buchs, Schweiz
Quercetindihydrat, Zimtsäure, $\alpha\alpha\alpha$ 3-(Trifluoromethyl)benzoessäure, 2,5 Dihydroxybenzoessäure, und Naringenin	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich

Probenvorbereitung

Die frisch geöffneten Weine (Tab. 3) wurden filtriert, (Iso-Disc™, N-4-4, Nylon, 4 mm, 0.45 μ m, Supelco, Bellefonte, PA, USA) und 1:10 mit einem 10 mmol/l Ammoniumformiat-Puffer mit einem pH-Wert von 3,75 und 10 %vol. Methanol zu einem Endvolumen von 1 ml verdünnt. Anschließend wurden 20 μ l interner Standard (50 μ mol/l Naringenin und 3-(Trifluoromethyl) Benzoessäure in Methanol) hinzugegeben. Ein Multi-Komponenten-Standard für die externe Kalibrierung des LC-MS/MS-Systems mit einer Ausgangskonzentration von 50 μ mol/l für jede Substanz wurde hergestellt. Der Standard wurde in 10 mmol/l Ammoniumformiatpuffer, pH-Wert 3,75, mit 10 %vol. Methanol zubereitet. Unter Berücksichtigung der Konzentrationen der untersuchten Substanzen in den verdünnten Weinproben wurde der Arbeitsbereich jeder Substanz angepasst. Die Konzentrationschritte im Multi-Komponenten-Kalibrationsmix waren 0,1/0,5/1/5/10/25 μ mol/l.

LC-MS Analytik

Die Quantifizierungen der ausgewählten Phenole wurden auf einem Agilent 6410 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Palo Alto, CA, USA) im negativen Ionisierungsmodus, ausgerüstet mit einem Electro-Spray-Ionisierungs-Interface, durchgeführt. Als Trocknungsgas und Kollisionsgas wurde Stickstoff eingesetzt. Des Weiteren bestand der Versuchsaufbau aus einem Flüssig-Chromatographie-System (1200SL series Agilent), welches mit dem Massenspektrometer gekoppelt war. Das Chromatographie-System bestand aus einer quaternären Gradientenpumpe, einem Autosampler, einem Flüssigkeits-Entgaser und einem Säulenofen. Die Umkehrphasentrennung wurde mit einer Rapid Resolution HPLC-Säule (RR RP 18, 1,8 μ m,

Tab. 3: Probennummer, Sorte, Jahrgang, geographische Herkunft, Hersteller der untersuchten Weine

Probe	Weingut	Sorte	Jahrgang	Geogr. Herkunft	Bezugsquelle
1	Cobenzl	Zweigelt	1999	Wien	Weingut Cobenzl
2	Cobenzl	Zweigelt	2002	Wien	Weingut Cobenzl
3	Cobenzl	Zweigelt, Mayor	2003	Wien	Weingut Cobenzl
4	Cobenzl	Zweigelt, Senator	2003	Wien	Weingut Cobenzl
5	Cobenzl	Zweigelt, Mayor	2004	Wien	Weingut Cobenzl
6	Cobenzl	Zweigelt, Senator	2004	Wien	Weingut Cobenzl
7	Cobenzl	Zweigelt, Senator	2005	Wien	Weingut Cobenzl
8	Cobenzl	Zweigelt, Senator	2005	Wien	Weingut Cobenzl
9	Cobenzl	Zweigelt, Senator	2006	Wien	Weingut Cobenzl
10	Schicht	Zweigelt	2004	Wien	Vinothek
11	Göbel	Zweigelt	2005	Wien	Vinothek
12	Christ	Zweigelt	2006	Wien	Vinothek
13	Kroiss	Zweigelt	2007	Wien	Vinothek
14	Christ	Zweigelt	2004	Wien	Weingut Christ
15	Peter Lehmann	Cabernet Sauvignon	2004	Australien	Wein und Co
16	Christ	Zweigelt	2005	Wien	Weingut Christ
17	Ironstone	Cabernet Sauvignon	2004	Kalifornien	Wein und Co
18	Hajszan	Zweigelt	2008	Wien	Weingut Haszjan
19	Christ	Zweigelt	2008	Wien	Weingut Christ
20	Lapostolle	Cabernet Sauvignon	2007	Chile	Wein und Co
21	Hajszan	Zweigelt	2007	Wien	Weingut Haszjan
22	Silverado	Cabernet Sauvignon	2005	Kalifornien	Wein und Co
23	MC Williams	Cabernet Sauvignon	2002	Australien	Wein und Co
24	Christ	Cabernet Sauvignon	2006	Wien	Weingut Christ
25	Carmen	Cabernet Sauvignon	2006	Chile	Wein und Co
26	Gallo	Cabernet Sauvignon	2005	Kalifornien	Wein und Co
27	Christ	Zweigelt	2007	Wien	Weingut Christ
28	Salomon	Cabernet Sauvignon	2004	Australien	Wein und Co
29	Equus	Cabernet Sauvignon	2006	Chile	Wein und Co
30	Bayer	Blaufränkisch	2004	Burgenland	Christoph Schmölzer
31	Gesellmann	Cuvee	2003	Burgenland	Christoph Schmölzer
32	Aumann	Cuvee	2003	Niederösterreich	Christoph Schmölzer
33	Gärtner	Zweigelt	2003	Burgenland	Christoph Schmölzer
34	Triebaumer	Blaufränkisch	2002	Burgenland	Christoph Schmölzer
35	Schwarz	Zweigelt	2005	Burgenland	Christoph Schmölzer
36	Schwarz	Zweigelt	2006	Burgenland	Christoph Schmölzer
37	Kollwentz	Cabernet Sauvignon	2003	Burgenland	Christoph Schmölzer
38	Kollwentz	Cabernet Sauvignon	2002	Burgenland	Christoph Schmölzer
39	Heinrich	Cuvee Salzberg	2006	Burgenland	Christoph Schmölzer
40	Krutzler	Blaufränkisch	2000	Burgenland	Christoph Schmölzer
41	P.N. Kurzberg	Pinot Noir Kurzberg	2000	Burgenland	Christoph Schmölzer
42	Triebaumer	Blaufränkisch	2000	Burgenland	Christoph Schmölzer
43	Kollwentz	Blaufränkisch	2002	Burgenland	Christoph Schmölzer
44	H.P. Göbel	Zweigelt	1998	Wien	Weingut Göbel
45	H.P. Göbel	Zweigelt	2000	Wien	Weingut Göbel
46	H.P. Göbel	Zweigelt	2001	Wien	Weingut Göbel
47	H.P. Göbel	Zweigelt	2002	Wien	Weingut Göbel
48	H.P. Göbel	Zweigelt	2004	Wien	Weingut Göbel
49	H.P. Göbel	Zweigelt	2006	Wien	Weingut Göbel
50	H.P. Göbel	Zweigelt	2007	Wien	Weingut Göbel

Fa. Agilent) durchgeführt. Die Mass Hunter Software (Version B.01.03) wurde für die Kontrolle des Geräts und das Prozessieren der Daten verwendet. 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol und 4-Hydroxy-3-methoxycinnamaldehyd konnten nicht quantifiziert werden. Bei 4-Hydroxy-3-methoxycinnamaldehyd war unter den

gegebenen Bedingungen die Ionisierungseffizienz zu niedrig und 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol scheint im negativen Ionisierungsmodus nicht ionisierbar zu sein. Benzoesäure und Zimtsäure mussten aus dem statistischen Modell ausgeschlossen werden, da die gemessenen Signale unter der Nachweisgrenze lagen.

Als Laufmittel wurden die in Tabelle 4 angegebenen Chemikalien verwendet (Tab. 4.).

Tab. 4: Zusammensetzung der verwendeten Lösungsmittel

Lösungsmittel A	98,9 % H ₂ O, 1 % Acetonitril, 0,1 % Ameisensäure
Lösungsmittel B	98,9 % Acetonitril, 1 % H ₂ O, 0,1 % Ameisensäure

Die Flussrate wurde auf 0,4 ml/min gesetzt und die Säule wurde auf 40 °C temperiert. Das Injektionsvolumen betrug 3 µl. Die Trennung erfolgte unter Verwendung des in Tabelle 5 dargestellten Gradientenprogramms (Tab. 5).

Tab. 5: Verlauf des chromatographischen Gradienten

Zeit	A %	B %	Flussrate (µl/min)
0,00	98,0	2,0	400
1,50	98,0	2,0	400
11,25	55,0	45,0	400
12,75	30,0	70,0	400
12,82	98,0	2,0	400
15,00	98,0	2,0	400

Statistische Auswertung

Die gesammelten Daten wurden einer Diskriminanzanalyse unterzogen. Die Auswertung erfolgte mit SPSS für Windows (Version 15.0). Die Gruppierungsvariablen waren die geographische Herkunft, die Weinsorte und der Hersteller. Die unabhängigen Variablen waren die mittels LC-MS/MS ermittelten Konzentrationen der einzelnen Phenole. Das arithmetische Mittel und die Standardabweichung für jede Variable in jeder Gruppe wurden bestimmt. Ein Box-M-Test wurde durchgeführt, um die Gleichheit von Streuungen in Gruppen zu überprüfen.

Ergebnisse

Konzentrationen der Phenole in den untersuchten Weinen

Die gesammelten Daten wurden in Hinblick auf geographische Herkunft, Rebsorte und Hersteller (nur innerhalb Wiens) untersucht.

Rebsorte

Es wurden Rotweine von vier Sorten ('Blauer Zweigelt', 'Blaufränkisch', 'Cabernet Sauvignon' und 'Pinot noir') und Cuvees untersucht. Die Proben umfassten 29 'Blauer Zweigelt', zehn 'Cabernet Sauvignon', fünf 'Blaufränkisch', einen 'Pinot Noir' und zwei Cuvees als Mischung verschiedener Sorten (Tab. 3). Aus Tabelle 6 ist ersichtlich, dass 95,9 % der ursprünglich gruppierten Fälle korrekt entsprechend ihrer Sortenbezeichnung klassifiziert wurden. Nur zwei Proben der Sorte 'Cabernet Sauvignon' wurden unrichtigerweise als 'Zweigelt' klassifiziert (Abb. 1).

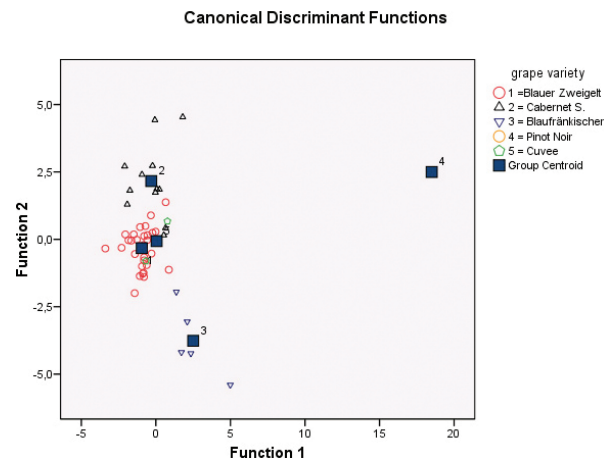


Abb. 1: Grafische Darstellung der Ergebnisse mit Weinsorte als Gruppierungsvariable

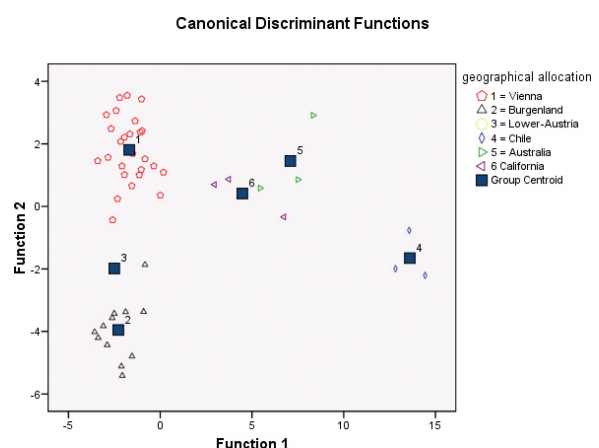


Abb. 2: Grafische Darstellung der Ergebnisse mit geographischer Herkunft als Gruppierungsvariable

Tab. 6: Klassifizierungsergebnisse der gemessenen Daten in Hinsicht auf Rebsorte

		Klassifikation Ergebnisse (b, c)						
		Sorte	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit					Total
			1	2	3	4	5	
Ursprünglich	Ergebnis	1	29	0	0	0	0	29
		2	0	10	0	0	2	12
		3	0	0	5	0	0	5
		4	0	0	0	1	0	1
		5	0	0	0	0	2	2
	%	1	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		2	0,0	83,3	0,0	0,0	16,7	100,0
		3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
		4	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0
Kreuzvalidierung (a)	Ergebnis	1	24	0	1	0	4	29
		2	3	6	0	0	3	12
		3	0	0	4	0	1	5
		4	0	0	1	0	0	1
		5	1	0	0	0	1	2
	%	1	82,8	0,0	3,4	0,0	13,8	100,0
		2	25,0	50,0	0,0	0,0	25,0	100,0
		3	0,0	0,0	80,0	0,0	20,0	100,0
		4	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
		5	50,0	0,0	0,0	0,0	50,0	100,0

- (a) Kreuzvalidierung wird nur für jene Fälle in der Analyse durchgeführt. Bei der Kreuzvalidierung wird jeweils durch die Funktionen von allen anderen Fällen bis auf diesen Fall abgeleitet klassifiziert.
- (b) 95,9 % der ursprünglichen gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.
- (c) 71,4 % der kreuzvalidierten gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.

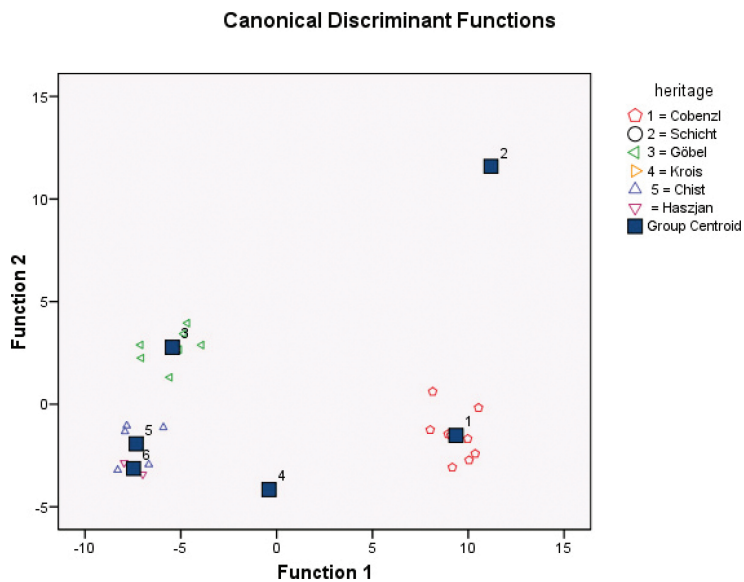


Abb. 3 : Grafische Darstellung der Ergebnisse mit Hersteller als Gruppierungsvariable

Tab. 7: Klassifizierungsergebnisse der gemessenen Daten in Hinsicht auf geographische Herkunft

		Klassifikation Ergebnisse (b, c)							
		Herkunft	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit						Total
			1	2	3	4	5	6	
Ursprünglich	Ergebnis	1	27	0	0	0	0	0	27
		2	0	10	2	0	0	0	12
		3	0	0	1	0	0	0	1
		4	0	0	0	3	0	0	3
		5	0	0	0	0	2	1	3
		6	0	0	0	0	0	3	3
	%	1	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		2	0,0	83,3	16,7	0,0	0,0	0,0	100,0
		3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		4	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	66,7	33,3	100,0
		6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0
Kreuzvalidierung (a)	Ergebnis	1	23	0	4	0	0	0	27
		2	0	9	3	0	0	0	12
		3	0	1	0	0	0	0	1
		4	0	0	0	2	1	0	3
		5	0	0	0	0	1	2	3
		6	1	0	0	0	1	1	3
	%	1	85,2	0,0	14,8	0,0	0,0	0,0	100,0
		2	0,0	75,0	25,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		3	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		4	0,0	0,0	0,0	66,7	33,3	0,0	100,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	66,7	100,0
		6	33,3	0,0	0,0	0,0	33,3	33,3	100,0

(a) Kreuzvalidierung wird nur für jene Fälle in der Analyse durchgeführt. Bei der Kreuzvalidierung wird jeweils durch die Funktionen von allen anderen Fällen bis auf diesen Fall abgeleitet klassifiziert.

(b) 93,9 % der ursprünglichen gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.

(c) 73,5 % der kreuzvalidierten gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.

Tab. 8: Klassifizierungsergebnisse der gemessenen Daten in Hinsicht auf Hersteller

		Klassifikation Ergebnisse (b, c)							
		Herkunft	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit						Total
			1	2	3	4	5	6	
Ursprünglich	Ergebnis	9	0	0	0	0	0	9	9
		0	1	0	0	0	0	1	0
		0	0	8	0	0	0	8	0
		0	0	0	1	0	0	1	0
		0	0	0	0	5	0	5	0
		0	0	0	0	0	2	2	0
	%	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0
		0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0
Kreuzvalidierung (a)	Ergebnis	7	0	0	2	0	0	9	7
		1	0	0	0	0	0	1	1
		1	1	2	1	1	2	8	1
		0	0	0	0	1	0	1	0
		0	0	2	0	2	1	5	0
		0	0	1	0	1	0	2	0
	%	77,8	0,0	0,0	22,2	0,0	0,0	100,0	77,8
		100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0
		12,5	12,5	25,0	12,5	12,5	25,0	100,0	12,5
		0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	40,0	0,0	40,0	20,0	100,0	0,0
		0,0	0,0	50,0	0,0	50,0	0,0	100,0	0,0

(a) Kreuzvalidierung wird nur für jene Fälle in der Analyse durchgeführt. Bei der Kreuzvalidierung wird jeweils durch die Funktionen von allen anderen Fällen bis auf diesen Fall abgeleitet klassifiziert.

(b) 100,0 % der ursprünglichen gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.

(c) 42,3 % der kreuzvalidierten gruppierten Fälle korrekt klassifiziert.

Geographische Herkunft

Es wurden sechs geographische Ursprungsorte untersucht. 27 Weine stammten aus Wien, zwölf aus dem Burgenland, drei aus Australien, drei aus Chile, drei aus Kalifornien und einer aus Niederösterreich. 93,9 % der ursprünglich gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert. Nur eine Probe aus Wien und eine aus Australien wurden unrichtig klassifiziert (Tab. 7; Abb. 2).

Hersteller

Es wurden die Weine von sechs Produzenten aus der Region Wien untersucht. Neun Weine wurden vom Weingut Cobenzl, acht vom Weingut Göbel, fünf vom Weingut Christ und je einer vom Weingut Hajszan, Weingut Kroiss und Weingut Schicht hergestellt. 100 % der ursprünglich gruppierten Fälle wurden korrekt klassifiziert (Tab. 8; Abb. 3).

Literatur

- BUCHANAN, B., GRUISSEM, W. and JONES, R. (2000): Natural products (Secondary metabolites). In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, p. 1250-1318. – Rockville, MD (USA): Amer. Soc. Plant Physiologists, 2000
- EDER, R., WENDELIN, S. und VRHOVSEK, U. 2001: Resveratrolgehalte von Trauben und Rotweinen in Abhängigkeit von Lesejahrgang und Lesetermin. *Mitt. Klosterneuburg* 51: 64-78
- HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, A.R. and BOBILYA, D.J. 2002: Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13(10): 572-584
- HERRMANN, K. 1989: Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28: 315-347
- HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., CARLAVILLA, D., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J. and MORENO-ARRIBAS, M.V. 2006: Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Anal. Chim. Acta*: 563: 116-125
- HUBER, E., WENDELIN, S., KOBLER, A., BERGHOFER E., und EDER, R. 2005: Bestimmung der Phenolzusammensetzung, der sensorischen Eigenschaften und der antioxidativen Kapazität im Reifeverlauf bei vier Südtiroler Rotweinsorten. *Mitt. Klosterneuburg* 55: 3-21
- JACKSON, D.I. and LOMBARD, P.B. 1993: Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – a review. *Amer. J. Enol. Vitic.* 44: 409-430
- JAITZ, L., SIEGL, K., EDER, R., RAK, G., ABRANKO, L., KOELLEN-SPERGER, G. and HANN, S. 2010: LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic

Diskussion

Die Evaluierung der statistischen Daten lässt den Schluss zu, dass das gewählte Phenol-Profil für die Klassifizierung von geographischer Herkunft und Weinsorte bei kommerziell erhältlichen Rotweinen verwendet werden kann. Speziell von Interesse ist, dass es selbst möglich war, den Hersteller im Raum Wien richtig zu klassifizieren. Die entwickelte Methode würde die Möglichkeit zur Kontrolle der qualitäts- und wertrelevanten Merkmale des Weines bieten und des Weiteren eine Möglichkeit Betrugsfälle aufzudecken. Ermöglicht wird dies durch die Anwendung von 1,8 µM-Partikeln als stationäre Phase bei der chromatographischen Trennung. Sie ermöglicht sehr schnelle und effiziente Trennungen und sogar die Trennung von strukturellen Isomeren. In zukünftigen Experimenten soll untersucht werden, ob die entwickelte Methode auch für die Analyse anderer Matrizen adaptiert werden kann.

- origin, grape variety and vintage. *Food Chem.* 122: 366-372
- KLINGE, C.M., RISINGER, K.E., WATTS, M.B., BECK, V., EDER, R. and JUNGBAUER, A. 2003: Estrogenic activity in white and red wine extracts. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1850-1857
- MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C. and JIMÉNEZ, L. 2004: Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Amer. J. Clin. Nutr.*: 79(5): 727-747
- OTREBA, J.B., BERGHOFER, E., WENDELIN, S. und EDER, R. 2006: Polyphenole und antioxidative Kapazität in österreichischen Weinen aus konventioneller und biologischer Traubenproduktion. *Mitt. Klosterneuburg* 56: 22-32
- SCHEIBLHOFFER, H., WENDELIN, S., BRANDES, W., BERGHOFER, E. und EDER, R. 2005: Analytische und sensorische Veränderungen von Rotwein während der Lagerung in Barriques aus französischer und burgenländischer Eiche. *Mitt. Klosterneuburg* 55: 211-226
- SHRIKHANDE, A.J. 2000: Wine by-products with health benefits. *Food Res. Int.* 33(6): 469-474
- VINSON, J.A. and HONTZ, B.A. 1995: Phenol antioxidant index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem.* 43(2): 401-403
- VRHOVSEK, U., WENDELIN, S. und EDER, R. 1997: Quantitative Bestimmung von Hydroxyzimtsäuren und Hydroxyzimtsäurederivaten (Hydroxycinnamaten) in Weißweinen mittels HPLC. *Mitt. Klosterneuburg* 47: 164-172
- ZÖCHLING, A., REITER, E., EDER, R., WENDELIN, S., LIEBNER, F. and JUNGBAUER, A. 2009: The flavonoid kaempferol is responsible for the majority of estrogenic activity in red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 223-232
- Eingelangt am 9.9.2011