

Chromatographie-Praktikum VAK 02-03-5-AnC3-4

Gaschromatographie Versuch mittels GC-MS

Erster Versuchsteil: qualitative Analyse von einem Alkan Gemisch C₇-C₃₀ in *n*-Hexan

Zweiter Versuchsteil: qualitative Aromaanalyse von einem unbekanntem komplexen Gemisch: **Aromaanalyse einer von den Studierenden mitzubringenden Weinprobe**

Lernziele

- Stofftrennung von komplexen Stoffgemischen mittels Gaschromatographie
- Unterschiede zwischen isothermen Messungen und Temperaturgradient-Messungen
- Anwendung und Bedeutung von Kovats-Indices
- Herstellung eines Weinextrakts
- Identifizierung einer Verbindung aus einem unbekanntem, komplexen Stoffgemisch
- Einfluss einer Derivatisierung auf Trennung und Sichtbarkeit
- Spektren-Auswertung und -Interpretation
- Einblick in die Aromavielfalt des Weines

Versuchsvorbereitung

- Aufbau eines Gaschromatographs
- Säulenmaterialien und Eigenschaften von GC-Säulen
- Welche Detektoren können mit einem GC gekoppelt werden?
- Wie sind diese Detektoren aufgebaut?
- Was sind Kovats-Indices und wie werden sie berechnet? (Formeln können!)
- Interpretation von Massenspektren
- Siedepunkte von Kohlenwasserstoffen (C₇-C₃₀)
- Vorüberlegungen zur Extraktion von der Weinprobe (Vorgehensweise, Lösungsmittel, etc.)
- Welche Verbindungen und Substanzklassen sind in Wein enthalten?
- Mechanismus einer Derivatisierung mittels MSTFA

Versuchsdurchführung

- Einprogrammieren und starten der Messungen des bereitgestellten Alkan Gemisches mit verschiedenen Temperaturprogrammen, sowie dem Messprogramm für die Weinproben
- Während die Messungen laufen: Anfertigung von zwei Weinextrakt-Proben mit anschließender Derivatisierung einer der beiden Proben

- Einprogrammieren der Messungen der Weinproben, sowie einer Referenzsubstanz
- Auswertung des Alkan Gemischs: Berechnung und graphische Auftragung Kovats-Index vs. R_t und Kovats-Index vs. $\log(R_t)$
- Berechnung des Kovats-Index von 2-Phenylethanol in der Referenzprobe
- Nachweis von 2-Phenylethanol in der Weinprobe (welche Parameter wichtig?)
- Auswertung des EI-Massenspektrums von 2-Phenylethanol (Fragmentierungen)
- Vergleich der derivatisierten mit der nicht-derivatisierten Weinprobe
- Datenbankabgleich der Massenspektren der einzelnen Verbindungen aus dem Wein mit der NIST2008 Datenbank → Tabellen

→ Durch die Verwendung eines GC-MS-Geräts ausgestattet mit einem Autosampler können die Messungen nebenbei laufen. Zudem können die Messungen bereits während eines Laufes am PC ausgewertet werden.

(Für eine parallele Auswertung wäre ein Laptop von Vorteil)

Kurze theoretische Einleitung in Weinaromen:

Anwendungsgebiet gaschromatographischer Verfahren sind Aufgabenfelder der quantitativen und qualitativen Analytik sowie der Spurenanalytik. So werden Gaschromatographen, häufig auch gekoppelt mit einem Massenspektrometer, beispielsweise in der Lebensmittelindustrie zur Bestimmung von Inhaltsstoffen, bei Dopingkontrollen zur Untersuchung von Harn- und Blutwerten, sowie zur Duftstoffbestimmung in der Sensorik eingesetzt. ^[1]

Für Letzteres ist die Aromaanalyse von Weinen ein interessantes Beispiel mit breitem Anwendungsbereich in der Qualitätssicherung, Sortenerkennung und -weiterentwicklung sowie Früherkennung von Missernten. Hierbei wird die sensorische Prüfung der Weine bei genormten Prüfbedingungen und durch geschultes Personal mit chemisch maschinellen Analysemethoden kombiniert, um ein möglichst objektives und differenziertes Ergebnis zu erhalten. ^[2]

Quantitativ betrachtet, stellen die Aromastoffe im Wein mit einem Anteil von 0,05% eine untergeordnete Rolle dar – Hauptbestandteile sind Wasser und Alkohol. Doch trotz ihres mengenmäßig geringen Vorkommens sind sie es, die den Charakter einer Rebsorte prägen und die Qualität des Weines wesentlich beeinflussen. Zusammengefasst werden die Weinaromen durch das Charakteristikum ihrer Flüchtigkeit. Demgegenüber existiert in dieser Gruppe eine große strukturelle Vielfalt von mehr als 800 Verbindungen, die sich in die Substanzklassen der Alkohole, Ester, Organischen Säuren, Phenole, Thiole, Monoterpene sowie Norisoprenoide gliedern. ^[2,3]

Da viele der Duftstoffe nur in ihrer Vorstufe als Präkursoren in der Traube enthalten sind, und erst während der einzelnen Bearbeitungsprozesse synthetisiert werden, kann eine Einteilung der Weinaromen anhand ihres zeitlichen Auftretens erfolgen. So unterscheidet man sortentypische Aromastoffe, die in den unverletzten Zellen der Weintrauben enthalten sind von

denen, die während den Vorgängen der Vinifikation wie Mahlen, Maischen, Pressen durch chemische, enzymatisch-chemische und thermische Reaktionen entstehen. Ebenso erfolgt die Bildung spezifischer Aromen während der alkoholischen Gärung sowie die Ausbildung eines Alterungsbouquets, welches auf die chemischen Prozesse während der Lagerung zurückzuführen ist.

Zwar enthalten alle Traubensorten ein Kompendium an nahezu identischen Aromastoffen, entscheidend für die Herausbildung eines charakteristischen Aromaprofils der einzelnen Rebsorten sind allerdings die auftretenden Konzentrationsunterschiede. Die Ursachen hierfür liegen zum einen in der genetisch fixierten Art der Genexpression aber auch in äußeren Einflüssen, wie beispielsweise der Bodenbeschaffenheit, dem vorherrschenden Klima sowie der Art der Bewirtschaftung.

Die Konzentration einzelner Duftstoffe im Wein kann zwischen 10^{-2} – 10^{-12} g pro Liter betragen – wichtig für aromarelevante Verbindungen ist vielmehr, dass sie im Bereich der sensorischen Wahrnehmungsschwelle liegt. ^[4]

Die größte Substanzklasse aromarelevanter Verbindungen bilden die Organischen Säuren aus; die wohl am häufigsten vorkommende geruchsaktive Säure im Wein ist die Essigsäure. Liegt ihr Gehalt nahe der Geruchsschwelle (300 mg/L), wird der Probe eine gewisse Komplexität zugesprochen. Ist die Konzentration jedoch stark erhöht, so wird ihr essigartiger Geruch als eher störend empfunden. Daneben können auch Ameisensäure, Propansäure oder Butansäure im Wein vorkommen, wobei die beiden ersteren zu einer beißenden bzw. fettartigen Note führen, während der Geruch Letzterer an ranzige Butter erinnert. Ein ziegenartiger Eindruck resultiert aus dem Vorhandensein der Organischen Säuren C_6 – C_{10} . Obwohl Wein-, Äpfel-, und Milchsäure zu den nicht-flüchtigen Säuren gehören, sind sie für ein fruchtiges Aroma von Relevanz, da es während der Weinalterung zu einer langsamen Bildung von Estern kommt.

Obwohl Ethanol einen quantitativ wichtigen Bestandteil von Wein darstellt und zudem eine geruchsaktive Substanz ist, sind es höhere Alkohol, die den Geruchseindruck dominieren. So sind die Verbindungen 1-Propanol, Isobutylalkohol, 2-Methyl-1-butanol und Isoamylalkohol unter dem Begriff Fuselalkohol bekannt.

Eine würzig-harzige Note entsteht durch Hexanol, demgegenüber 2-Phenylethanol einen rosenartigen Duft besitzt. Das Auftreten von 1-Octen-3-ol deutet auf die für den Weinbau bedeutende Edelfäule (*Botrytis cinerea*) hin und besitzt einen signifikant pilzartigen Ton. Der Befall der Traube durch den Pilz führt zu einer Konzentrationserhöhung der Aromastoffe in der Frucht und damit zu einer Steigerung der Qualität.

Aus den Substanzklassen der Aldehyde und Ketone ist Acetaldehyd die am häufigsten detektierbare Verbindung und für einen Sherry- oder Luftton verantwortlich. Die Ursache hierfür ist das Auftreten von Kahlmhefen, welche wilden Wein befallen können. Ist eine Luftblase während der Lagerung im Weinfass, so kommt es zur Vermehrung, wobei Alkohol zu Acetaldehyd, Essigsäure und Ethylacetat umgesetzt wird. Furfural und Hydroxymethylfurfural führen dagegen zu einer karamellartigen Note. Diacetyl wird während der Fermentation gebildet und ist für ein leicht buttrig-nussiges Aroma verantwortlich. Bei höheren Konzentrationen oberhalb der Wahrnehmungsgrenze entstehen unangenehme milchsaure Fehlgerüche, welche durch Milchsäurebakterien verursacht werden. Die Lagerung und Reifung in Eichenfässern führt zu einer Anreicherung phenolischer Produkte, wie etwa Vanillin.

Die Anwesenheit von Estern dominiert durch ihre fruchtigen Noten wesentlich das Bouquet eines Weines. Hierzu gehören beispielsweise die Ester höherer Alkohole und kurzkettiger Fettsäuren, wie Ethylacetat, welches für einen ananasartigen Ton verantwortlich ist, Isoamylacetat, der einen bananenartigen Charakter besitzt, oder Benzylacetat, der dem

Wein eine apfelartige Note verleiht. Mit zunehmender Kohlenwasserstoffkettenlänge verändern sich die Geruchseindrücke bei den Estern von fruchtig über seifenartig hin zu einem schweineschmalzartigem Aroma bei der Veresterung der Palmitin- und Stearinsäure.

Vor allem in Weißweinsorten wie Muskat oder Gewürztraminer sind bestimmte Monoterpene für ein sortentypisch süßlich-blumiges Bouquet verantwortlich. Hierbei sind die häufigsten Vertreter azyklische Alkohole und Polyole sowie zyklische Ether und Lactone, welche aus Isopren bzw. Isopentyleneinheiten zusammengesetzt sind.

Als „Off-Odor“ bezeichnet man bei der Weinherstellung auftretende Geruchsnoten, welche aufgrund ihres aufdringlichen, unangenehmen Charakters ein unerwünschtes Fehl aroma darstellen. Hierzu zählen unter anderen Schwefelwasserstoff und seine Derivate oder Merkaptane. Ethan thiol beispielsweise besitzt ein Aroma, das an verrottete Zwiebel, verbrannter Gummi oder Fäkalien erinnert. Der Korkton in Weinen wird dagegen durch das Kohlenwasserstoffderivat Tetrahydronaphthalen hervorgerufen.^[2,4]

Literatur

^[1] Schomburg, G.: *Gaschromatographie: Grundlagen, Praxis, Kapillartechnik*; **1987**.

^[2] Rapp, A.: *Aromastoffe des Weines*; *Chemie in unserer Zeit*, 26/2, **1992**, 273-284.

^[3] Laubenbacher, S.; Hintz, B.; Leitner, E.: *Analytische Methoden zur Bestimmung flüchtiger Verbindungen in Wein*; Tagungsband LMCH-Tage, **2008**, 369-378.

^[4] Wüst, M.: *Wein-Qualität entscheidet sich in Nanogramm – Zur Biochemie des sortentypischen Weinaromas*; *Chemie in unserer Zeit*, 37/1, **2003**, 8-17.