

Anwendung chromatographischer Methoden zur Qualitäts- beurteilung von Weinen und Mosten.

von

E. BAYER

Eine objektive Beurteilung der Qualität von Weinen bzw. Traubenmosten ist in der Rebenzüchtungsforschung eine erstrebenswerte Aufgabe. Besonders die chromatographischen Methoden geben nun dem Züchter die Möglichkeit, wesentliche Qualitätsmerkmale chemisch zu erfassen. Wenngleich auch die Weinprobe noch nicht durch eine Summe objektiver chemischer Analysen zu ersetzen ist, wurden doch in den vergangenen Jahren mittels papier- und gaschromatographischer Untersuchungen Fortschritte erzielt.

Für den Züchter ist einmal die Kontrolle der bereits ausgewählten Neuzuchten interessant. Auf der anderen Seite besteht das Bedürfnis, mittels chemischer Untersuchungen aktiv in die Selektion von Rebsämlingen einzugreifen.

Eine objektive Festlegung der Qualität ist außerordentlich schwierig, da sich dieser Begriff stofflich schwer definieren läßt. Die Qualität wird im allgemeinen durch die Weinprobe ermittelt.

Unter Qualität eines Weines versteht man die natürliche, harmonische Zusammensetzung an Inhaltstoffen, welche eine bekömmliche, optimale Wirkung auf Sinne und Wohlbefinden ausübt.

Neben Säuren, Zuckern und Alkoholen spielen für die Qualität eines Weines aber auch die in geringen Mengen vorhandenen, auf den Geruchs- und Geschmacksinn schon in Spuren wirkenden Aromastoffe (Buketstoffe) eine wesentliche Rolle. Aber auch die Farbstoffe sind in diesem Zusammenhang zu erwähnen.

Diese Fragestellung veranlaßten Untersuchungen über verschiedene Inhaltstoffe von Weinen, welche für die Qualität von Bedeutung sind. Die Bearbeitung erfolgte mit den Methoden der modernen analytischen Chemie. Außer ihrer Anwendung in der Züchtungsforschung erscheinen die im folgenden mizuteilenden Ergebnisse auch für die Weinchemie im weiteren Rahmen interessant.

I. Papierchromatographische Methoden

Unter den modernen Mikromethoden ist die Papierchromatographie als Hilfsmittel in der Qualitätszüchtung besonders zu erwähnen. So steht die Papierchromatographie verschiedener Inhaltstoffe von Weinen und Mosten schon seit einem Jahrzehnt hier im Dienste der Züchtungsforschung. Einen Überblick über die verschiedenen Anwendungen geben die folgenden Abschnitte.

a. Hydroxycarbonsäuren des Mostes

Bekanntlich kommen in Traubenmosten neben Weinsäure Äpfelsäure und Zitronensäure vor. Es wäre nun interessant, durch Züchtung das Verhältnis an Säuren sehr stark zu variieren. Denn wenn relativ geringe Gehalte an Weinsäure vorliegen und der prozentuale Anteil an Äpfelsäure erhöht werden könnte, würden sich interessante Möglichkeiten zur Bereitung säurearmer Weine ergeben. Äpfelsäure wird bekanntlich während des „biologischen Säureabbaus“ durch Milchsäurebakterien [vgl. F. RADLER (1)] zur weniger sauren Milchsäure umgewandelt, während Weinsäure einem solchen biologischen Abbau nicht unterliegt. Umgekehrt kann auch ein höherer prozentualer Anteil Weinsäure interessant sein, um in klimatisch begünstigten Lagen einen konstanten, während des Weinausbaus nicht stark abnehmenden Säurespiegel zu halten.

Die chromatographische Auftrennung der Säuren aus verschiedenen Sorten hat nun ergeben, daß Schwankungen zwischen Wildsorten und Europäern einerseits und innerhalb der Neuzüchtungen andererseits vorhanden sind. Als Methoden wurde die planimetrische Auswertung der Flecken nach FLESCHE und JERCHEL (2) und die kolorimetrische Analyse nach ISHERWOOD and HANES (3) angewandt. In Abb. 1, Seite 300 ist das Säure-Chromatogramm eines Weines abgebildet.

Tabelle 1

Die prozentualen Anteile verschiedener Oxycarbonsäuren in Traubenmosten (Jahrgang 1952 und 1953)

Sorte	Säure ‰	Weinsäure %	Zitronensäure ‰	Äpfelsäure %
1952				
Sbl. 2-19-58	6,9	64,2	9,7	26,1
Pinard	8,2	58,1	14,6	27,1
FS. 4-195-39	9,0	60,1	11,7	28,2
Sylvaner	10,6	54,0	12,8	33,1
FS. 4-201-39	11,0	57,2	12,1	30,7
Riesling Klon 90	12,2	56,2	11,9	31,9
Riparia Grand Glabre	12,9	52,4	—	47,6
Riparia G Trier	13,0	47,2	18,3	36,2
Riparia G 64	15,0	50,1	19,0	30,8
Riparia G 73	15,6	47,9	19,8	32,3
Riparia G 78	16,2	52,2	18,7	32,8
FS. 4-175-30	19,9	62,3	11,2	27,1
Riparia G 86	20,0	51,3	16,8	40,2
Riparia G 2	22,6	46,0	20,4	33,6
1953				
Sbl. 2-19-58	6,4	65,7	8,3	26,3
Sylvaner	7,4	62,0	9,4	28,5
Riesling Klon 90	10,1	66,3	8,1	25,5
FS. 4-195-39	10,7	62,9	9,9	27,1
FS. 4-201-39	11,7	63,9	9,6	26,9
FS. 4-175-30	12,8	64,3	9,8	25,8
Kö. 51-49	14,5	61,5	9,8	29,4

Aus der Zusammenstellung der Ergebnisse an Traubenmosten der Jahrgänge 1952 und 1953 Tab. 1, S. 299 wird ersichtlich, daß die festgestellten Unterschiede der prozentualen Anteile an einzelnen Säuren nicht sehr groß sind. Jedoch fällt der bei *Vitis riparia* gegenüber den anderen Sorten erhöhte Gehalt an Zitronensäure auf. Mithin weisen die mitgeteilten Werte auf bestehende Sortenunterschiede hin.

Als Schnellmethode zur Untersuchung der Hydroxycarbonsäuren ist auch die im Teil 2 dieser Arbeit behandelte Gaschromatographie geeignet (4).

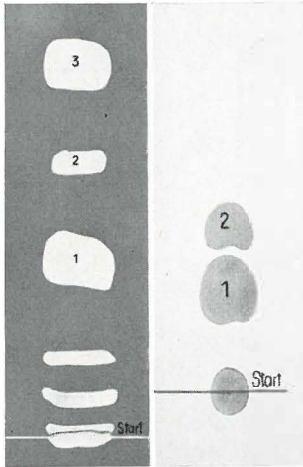


Abb. 1 Abb. 2

Abbildung 1

Papierchromatographische Trennung der Hydroxycarbonsäuren eines Traubenmostes: 1: Weinsäure, 2: Zitronensäure, 3. Äpfelsäure
Lösungsmittelgemisch: Butanol / Ameisensäure / Wasser 1024 : 200 : 90, Chromatographiepapier Schleicher und Schüll 2043 bM.

Abb. 2. Papierchromatographische Trennung der Glukose (1) und Fruktose (2) eines Traubenmostes.

Lösungsmittel und Chromatographiepapier wie in Abb. 1, Laufzeit: 48 Std.

b. Zucker

In reifen Trauben kommt Invertzucker, d. h. Glukose und Fruktose in etwa gleichem Verhältnis vor. AMERINE (5) hat nun darauf hingewiesen, daß durch die wesentlich größere Süßkraft der Fruktose eine Verschiebung des Glukose-Fruktose-Verhältnisses unter 1 bei der Tafeltraube interessant wäre. Denn wegen der etwa 15-fach größeren Süßkraft der Fruktose im Vergleich zur Glukose würde dann mit einem wesentlich geringeren Gesamtzuckergehalt eine gleiche Süße erreicht. Da nun dieses Problem für Tafeltrauben wie für die Bereitung von Traubensäften bedeutsam wäre, haben wir mittels einer von uns ausgearbeiteten papierchromatographischen Methode das Glukose-Fruktose-Verhältnis in verschiedenen Sorten und Neuzüchtungen festgestellt. Da bei dem Reifungsprozeß zunächst mehr Glukose in den Trauben vorhanden ist als Fruktose und sich erst später verstärkt Fruktose in die Trauben einlagert, erschien eine Variabilität im Glukose-Fruktose-Verhältnis durchaus denkbar. Auch bei Tomaten weicht z. B. das Verhältnis Glukose : Fruktose stark von 1 : 1 ab.

Nach der im experimentellen Teil gegebenen Vorschrift werden 0,05—0,1 ml Traubenmost auf Chromatographiepapier aufgetragen und mit Butanol-Ameisensäure-Wasser 48 Stunden absteigend chromatographiert. An Hand eines Leitchromatogrammes wird die Wanderungsstrecke der einzelnen Zucker festgestellt und die Glukose bzw. Fruktose enthaltenden Papiersektoren ausgeschnitten und mit Wasser eluiert. In den wäßrigen Eluaten werden die

Zucker mittels Triphenyl-tetrazoliumchlorid bestimmt. Diese Arbeitstechnik hat sich für unsere Arbeiten günstiger erwiesen, als die von WALLENFELS und Mitarb. (6) angegebene Methode.

Ein Papierchromatogramm der Trennung von Glukose und Fruktose aus Trauben ist in Abbildung 2, S. 300 wiedergegeben. Aus Tabelle 2 wird deutlich, daß geringe Schwankungen im Glukose-Fruktose-Verhältnis innerhalb verschiedener Sorten vorkommen. Die hier erhaltenen Werte stimmen mit den von AMERINE u. THOUKIS (5) angegebenen Daten überein.

Tabelle 2

Prozentuale Anteile an Fruktose und Glukose in Traubenmosten verschiedener Sorten (Jahrgang 1956 und 1957)

Sorte	° Oechsle	Fruktose %/o	Glukose %/o	Glukose : Fruktose
1956				
Sylvaner Cand. 1-76	50,3	47,4	52,3	1,10
Riesling Klon 90	52,5	50,3	49,7	0,99
FS. 4-201-39	68,3	46,9	53,1	1,13
Portugieser	69,2	50,7	49,3	0,97
Gf. 30 n-9-129	71,5	52,6	47,4	0,90
FS. 4-206-36	74,3	52,7	47,3	0,90
Sbl. 2-19-58	83,7	49,0	51,0	1,04
Sbl. 5-24-20	85,1	53,1	46,9	0,88
1957				
Portugieser	60,6	54,6	45,4	0,83
Riesling Klon 90	63,8	47,5	52,5	1,10
FS 4-201-39	72,9	45,3	54,7	1,21
FS. 4-206-36	86,5	52,9	47,1	0,89
Sbl. 2-19-58	88,4	47,7	52,3	1,10

c. Reifungsprozeß

Die Entwicklung und Bildung von Zuckern und Säuren in reifenden Trauben wird seit 1950* in diesem Institut verfolgt. Die Reifungskurven d. h. die in Abhängigkeit vom Reifungsdatum aufgetragenen Werte an Zucker (°Oechsle) bzw. Säuren (‰) lassen Rückschlüsse auf Frühreife und Intensität des Säureabbaus bzw. der Zuckereinlagerung zu [HUSFELD (7)]. Wir kennen so die Sorten, welche sehr intensiv und schnell Zucker einlagern und schnell die Säuren abbauen. Hierzu gehören z. B. die frühreifen Sorten, wie Sbl. 2-19-58 (vgl. Abb. 4, S. 302). Andere Sorten aber, wie in Abb. 3, S. 302 am Beispiel der Rieslingtraube gezeigt wird, bauen Säure langsamer ab und lagern Zucker weniger schnell ein. Aus der Gegenüberstellung dieser beiden Sorten (Abb. 3 und 4) wird im übrigen auch deutlich, daß bei gleicher Lage und gleichem Jahrgang die resistente Neuzüchtung Sbl. 2-19-58 etwa die Hälfte mehr Zucker in den Beeren anreichert als der Riesling. Berücksichtigt man neben dem erwähnten Säure-Zucker-Verhältnis dieser Neuzucht nun noch die Aromastoffe auf die später besonders eingegangen wird, so geht hieraus hervor, daß hohe Qualität und Resistenz auf züchterischem Wege ohne Weiteres kombiniert werden können.

*) Unveröffentlichte Untersuchungen von A. ARNOLD

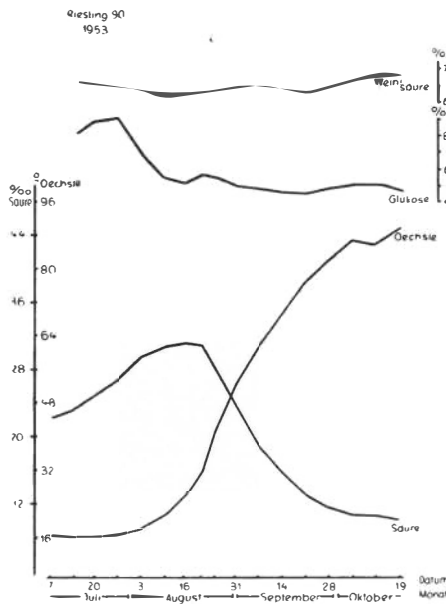


Abb. 3

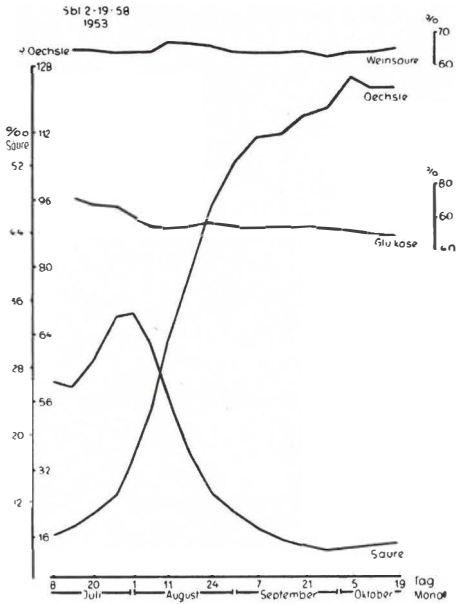


Abb. 4

Abb. 3 und 4. Entwicklung der Säuren (%), Zucker ($^{\circ}$ Oechsle), der prozentualen Anteile an Weinsäure und Glukose in reifenden Trauben.

3: Rieslingklon 90; 4: Neuzüchtung Sbl. 2-19-58.

Mittels der in Abschnitt a und b angegebenen chromatographischen Methoden wurde nun auch die Entwicklung der einzelnen Zucker und Säuren in reifenden Trauben beobachtet (vgl. Abbildung 3 und 4). Während anfangs vorwiegend Glukose eingelagert wird und sich somit das Invertzucker Verhältnis reifer Trauben erst im Verlauf der Reifung einstellt, bleiben die Säureverhältnisse während des Reifungsprozesses konstant.

d. Aromastoffe

In früheren Arbeiten (8-10) ist schon darauf hingewiesen worden, daß manche wesentliche Aromastoffe von Weinen, wie z. B. Ester, mittels papierchromatographischer Auftrennung der Eisen(III)-hydroxamsäurekomplexe erkannt werden können. Besonders die Ester höherer aliphatischer Carbonsäuren und aromatischer Säuren haben sich in qualitativ hochstehenden Riesling-Weinen gefunden. Aber auch in resistenten Neuzüchtungen sind diese Aromastoffe entdeckt worden. Aus der Gegenüberstellung der Esterchromatogramme (nach Umwandlung in Hydroxamsäure gemäß 9) eines hervorragenden Rieslingweines aus guter Lage und bestem Jahrgang (Serrig, 1949) und eines

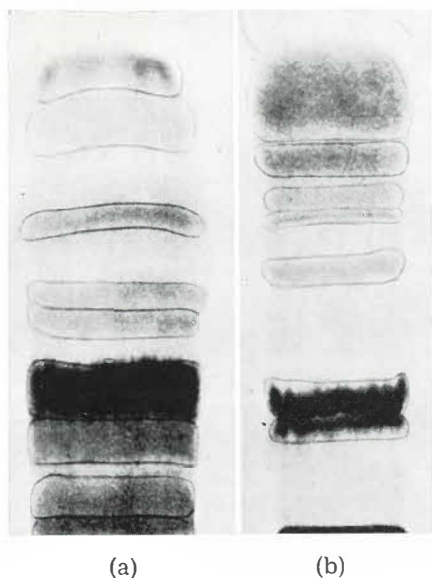


Abb. 5. Papierchromatische Erkennung der Ester eines 1949er Riesling Serrig (a) und eines 56er Sbl. 2-19-58 Geilweilerhof (b).

Weines der Sorte Sbl. 2-19-58 aus mäßiger Lage und schlechtem Jahrgang kann einwandfrei ersehen werden, daß durch Züchtung Sorten erhalten werden können, welche das Spektrum der Bukettstoffe von Spitzenweinen auch in mäßigen Lagen produzieren (vgl. Abbildung 5).

Eine ausgedehnte Anwendung der Papierchromatographie zur Untersuchung der flüchtigen Aroma- bzw. Bukettstoffe stößt auf Schwierigkeiten, da man vor der chromatographischen Trennung zunächst immer nichtflüchtige Derivate bilden muß, die Aromastoffe also nicht selbst chromatographieren kann. Diese Schwierigkeiten werden umgangen, wenn man gaschromatographische Untersuchungen heranzieht, die im Teil 2 dieser Arbeit geschildert sind.

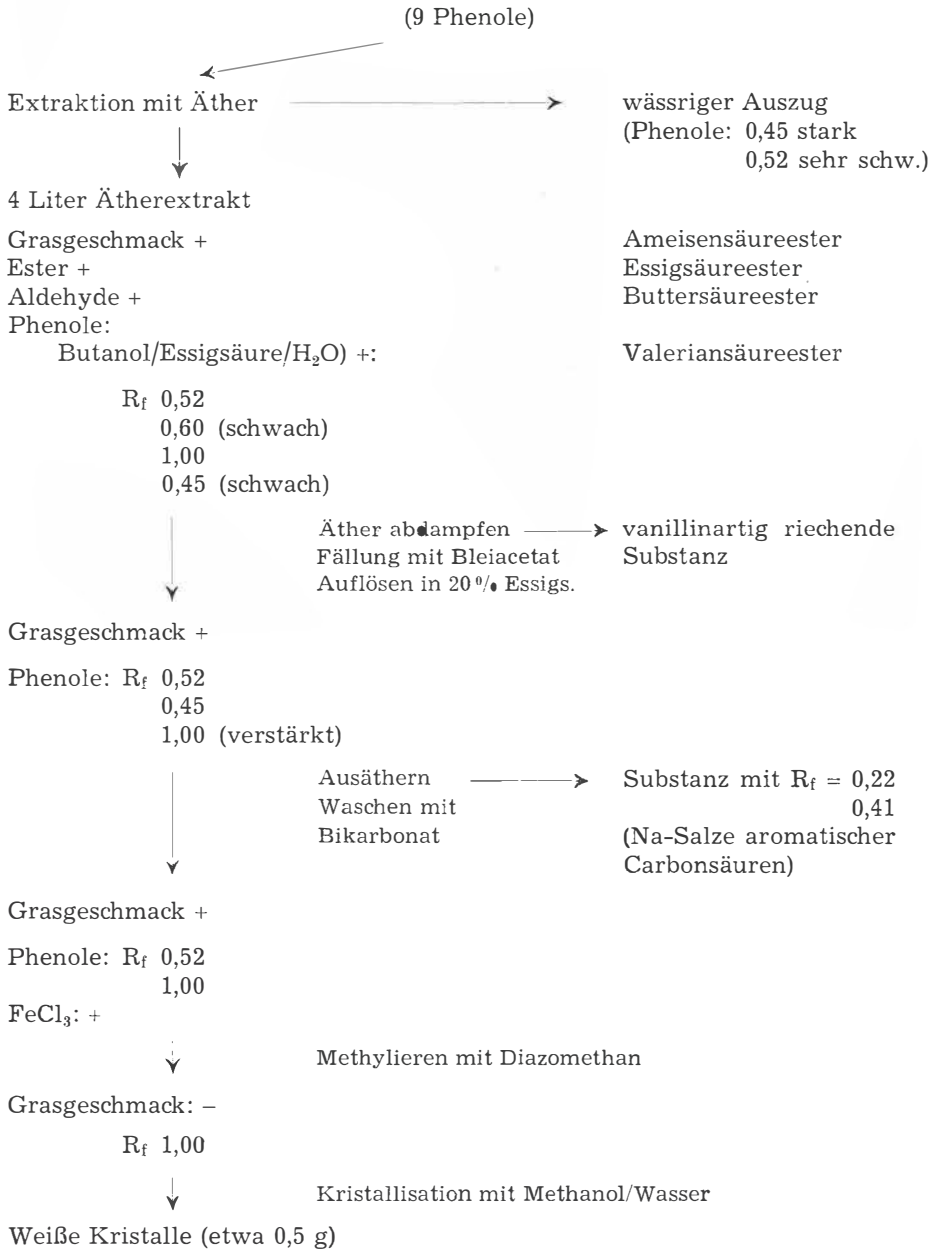
Neben den günstigen und erwünschten Aromastoffen interessieren den Züchter aber auch die in vielen Wildsorten vorkommenden ungünstigen Stoffe, deren Anwesenheit einen Wein für europäischen Geschmack untauglich macht. So ist seit langem bekannt, daß in Weinen von Amerikanerreben Stoffe vorkommen, die einen unangenehmen Grasgeschmack bedingen, welcher mit recht zur allgemeinen Ablehnung der sogenannten „Hybriden“ beigetragen haben mag. Es ist nun die Aufgabe dieses Institutes aus diesen Hybriden durch systematische Kreuzung und Rückkreuzungen mit Europäer-Kultursorten neue Sorten zu erhalten, welche die günstigen Eigenschaften der „Hybriden“, wie z.B. die Resistenz mit den Qualitätseigenschaften kombinieren. In der züchterischen Praxis ist dies gelungen und durch die Sinnenprobe bestätigt worden. Jedoch fehlte noch der exakte Nachweis, daß die unangenehmen Stoffe in den bezeichneten Neuzüchtungen nicht vorhanden sind.

Da über die Natur dieser Stoffe wenig bekannt war, haben wir die Substanz, welche für den Grasgeschmack verantwortlich ist, aus *riparia*-Most isoliert. Das Schema dieser Aufarbeitung ist in Tabelle 3 wiedergegeben. Zunächst wurde die fortschreitende Reinigung dieses Stoffes durch Geschmacksprüfung verfolgt und die Fraktionen mit dem stärksten, aufdringlichsten Grasgeschmack weiter verarbeitet. Durch Ätherextraktion, Bleifällung und nochmalige Ätherextraktion konnte nach dem angegebenen Schema eine Substanz erhalten werden, die sich durch eine starke Grünblaufärbung mit Eisen(III)-Chlorid, blaue Fluoreszenz und einen R_f -Wert von 0,52 (Partridge-Gemisch; Chromatographiepapier 2043 b/M, Schleicher und Schüll) auszeichnet. Durch Methylieren mit Diazomethan und Zusatz von Methanol läßt sich aus ätherischen Lösungen dieser Substanz ein zunächst öliges, langsam kristal-

lisierender Methyläther gewinnen. Es handelt sich um eine Verbindung mit phenolischen Hydroxylgruppen, deren Konstitution in Bearbeitung ist.

Tabelle 3

Schema der Isolierung des Riparia-Geschmackstoffes
aus Traubenmost von *V. riparia*-Sorten (15 l)



Nach Kenntnis der charakteristischen R_f -Werte dieser Substanz werden Traubenmoste von Neuzüchtungen auf diese Substanz untersucht und alle Sorten ausgeschieden bei denen sich diese Verbindung nachweisen läßt. Auf diese Weise können somit auch weiße Hybriden erkannt werden, sofern sie diese Substanz enthalten.

Auch die für den sogenannten „Fox- oder Fuchsgeschmack“ von „Hybriden“ verantwortliche Substanz ist von uns angereichert worden. Es handelt sich um eine unter 100°C siedende, neutrale organische Verbindung, deren Retentionsvolumina bei der gaschromatographischen Trennung bestimmt worden sind.

e. Farbstoffe.

Vitis vinifera und *Vitis riparia* und deren Bastarde mit roten Trauben unterscheiden sich prinzipiell in der jeweiligen Zusammensetzung der die Rotfärbung verursachenden Farbstoffe. Schon WILLSTÄTTER (11) hatte sich mit dem Farbstoff der Trauben beschäftigt und das Anthocyan Oenin, ein Glykosid des Dimethyläthers von Delphinidin isoliert. ARNOLD und WEGMANN (12) haben nun schon 1952 nachgewiesen, daß der Farbstoff der roten Traube nicht einheitlich ist und daß *Vitis riparia* und Kreuzungen von *Vitis riparia* × *Vitis vinifera* mehr Anthocyane enthalten als rote Varietäten von *Vitis vinifera*. Diese Feststellung ist inzwischen unabhängig von den Experimenten von ARNOLD und WEGMANN (12) auch von RIBÉREAU-GAYON und Mitarbeitern (13, 14) getroffen worden. Aus dem unterschiedlichen Anthocyangehalt kann auf die Abstammung von Trauben, Traubenmosten bzw. Weinen geschlossen werden, d.h. es können z.B. rote Hybridenweine und Verschnitte mit einem Gehalt bis 50% Hybridenwein ohne weiteres nachgewiesen werden (zum Nachweis weißer Hybriden vgl. Abschnitt d).

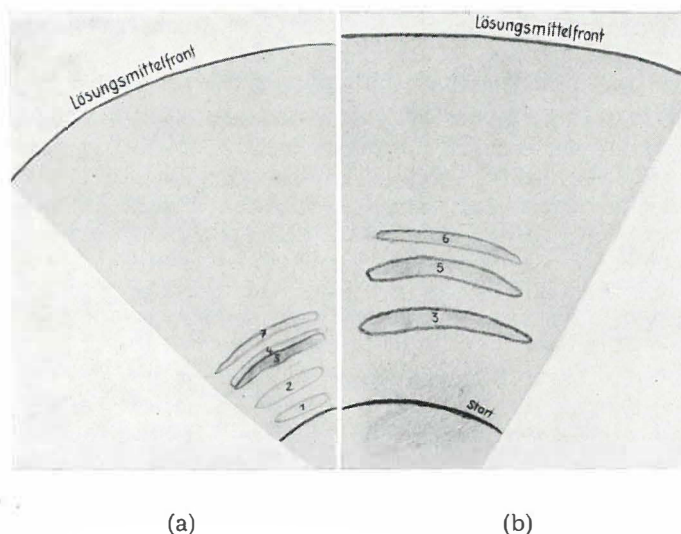


Abb. 6. Papierchromatographische Trennung der Hybridenanthocyane (a) und Europäeranthocyane (b) in Rotweinen.
Experimentelle Bedingungen nach Vorschrift im Versuchsteil.

Abb. 6, S. 305 zeigt die nach der Vorschrift im experimentellen Teil erhaltenen Papierchromatogramme eines Rotweines aus einer typischen Europäerrebe (Portugieser) und *Vitis riparia* × *Vitis vinifera*. Besonders die Rundfilterchromatographie hat sich zur Erkennung der verschiedenen Anthocyane gut eingeführt. Für die Weinkontrolle bedeutet die unterschiedliche Zusammensetzung der Anthocyane in Europäer- und Amerikanerreben eine Möglichkeit, rote Hybridenweine von Europäerweinen zu unterscheiden. Wenn die Anthocyane der Hybriden vorhanden sind, läßt sich mit Sicherheit aussagen, daß es sich um *riparia*-Wein oder eine Kreuzung mit *Vitis riparia* handeln muß. Andererseits ist die Abwesenheit der *riparia*-Anthocyane kein Beweis dafür, daß es sich um reine *vinifera*-Weine handeln muß. Denn in Übereinstimmung mit RIBÉREAU-GAYON und Mitarbeitern konnten wir feststellen, daß bei einigen Sorten, welche von *Vitis riparia* abstammen, die typischen Hybriden-Anthocyane fehlen.

Das Anthocyan 4, welches nur bei Sorten mit *riparia*-Abstammung auftritt, zeichnet sich durch eine intensive ziegelrote Fluoreszenz aus und macht so die Erkennung auch bei einer schlechteren papierchromatographischen Trennung möglich. Wir haben nachgewiesen, daß diese ziegelrote Fluoreszenz es erlaubt, Hybridenweine auch ohne papierchromatographische Auftrennung zu erkennen, wenn man nach der im experimentellen Teil angegebenen Arbeitsweise einen Tropfen des konzentrierten Weines auf ein Filtrierpapier bringt und die Fluoreszenz im ultravioletten Licht (Quarzlampe, Heraeus) beobachtet. Die Anthocyane der Europäer-Sorten zeigen hierbei lediglich eine schwache, dunkelrote Fluoreszenz.

Nach RIBÉREAU-GAYON (13) handelt es sich bei den Anthocyanen der Trauben um Delphinidin-, Petunidin-, und Syringidin-glukoside. Wir haben außer diesen Aglukonen noch ein weiteres Aglukon in Hydrolysaten von Farbstoffextrakten aus Europäertrauben (Portugieser) aufgefunden, bei welchem es sich um ein bisher nicht bekanntes Trimethylderivat des Delphinidins handeln dürfte.

II. Gaschromatographische Methoden.

Die von JAMES and MARTIN (15) 1952 entdeckte Gas-Verteilungschromatographie ist zu der elegantesten Analysenmethode für die Untersuchung flüchtiger Substanzen geworden. Da nun in Wein bzw. Trauben eine ganze Reihe niedrig siedender Substanzen, wie z.B. flüchtige Säuren, Bukettstoffe usw., vorkommen, haben wir diese Methode seit längerer Zeit benutzt und eine für die Untersuchung von Aromastoffen geeignete Apparatur entwickelt (18-19).

Es sei hier kurz das Prinzip der gaschromatographischen Arbeitstechnik geschildert. Abb. 7, S. 306 zeigt den schematischen Aufbau eines Gaschromatographen.

Die Trennsäulen 1 (Chromatographiesäulen) stellen Rohre aus Metall oder Glas dar (0,6 mm Durchmesser; 1-10 m Länge), welche mit der stationären Phase gefüllt sind. Zu deren Bereitung wird Kieselgur (Korngröße ca. 0,1 mm) mit 20% einer flüssigen Phase z.B. Dinonylphthalat oder Silikon-Hochvakuumfett, imprägniert. Durch die Trennsäule fließt ein inertes, aus einer Stahlflasche (2) kommendes Trägergas, z.B. Wasserstoff oder Stickstoff, dem bei (3) das zu trennende Substanzengemisch als Gas oder Flüssigkeit zugegeben wird. Je nach den Wechselwirkungskräften (Verteilungskoeffizienten) zwischen flüssiger Phase und zu trennender Substanz werden die einzelnen Komponenten mehr oder weniger stark zurückgehalten. Die Verbindungen treten am

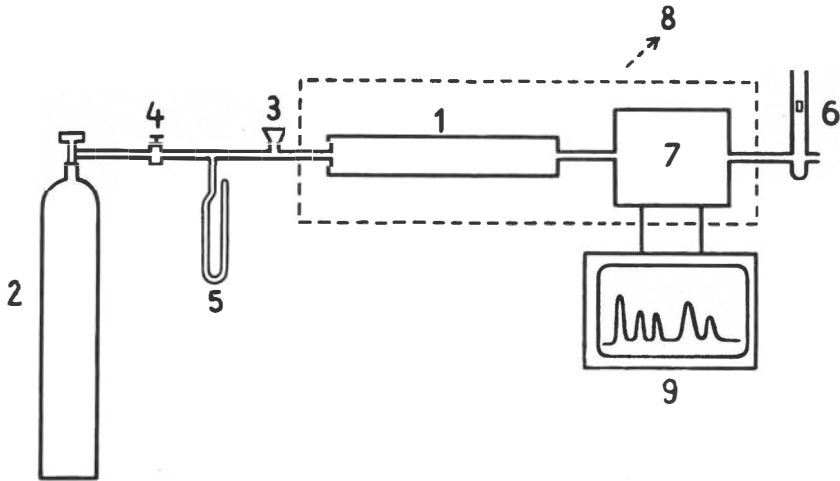


Abb. 7. Schema eines Gaschromatographen: Trennsäule (1), Vorratsflasche für Trägergas (2), Einbringvorrichtung für zu trennende Substanz (3), Feinregulierventil (4), Manometer (5), Durchflußmesser (6), Detektor (7), Thermostat (8), Schreiber (9).

Ende der Säule getrennt aus und werden durch den Detektor (7) gemessen. In der Regel werden hierfür Wärmeleitmeßkammern angewandt. Das Meßergebnis wird durch einen Schreiber (9) oder Kompensographen automatisch registriert. Hierbei werden die in Abb. 8 und 9, S. 308 dargestellten Zeit-Konzentrations-Kurven erhalten. Ein Thermostat (8) sowie Meßinstrumente für Durchflußgeschwindigkeit des Trägergases und Druckabfall auf der Säule vervollständigen die Ausrüstung. Gaschromatographen werden inzwischen auch in Deutschland gebaut* und gehandelt.

Fettsäuren waren die ersten Substanzen, die von JAMES and MARTIN (15) gaschromatographisch getrennt worden sind. Es lag deshalb auf der Hand, die Gas-Verteilungschromatographie auch zur Auftrennung der flüchtigen Säuren in Weinen heranzuziehen. Die nach McINNES (16) zur Gaschromatographie der niederen aliphatischen Carbonsäuren bereiteten Proben werden an 3 m langen Trennsäulen mit 20% Polyäthylenglykol (Molgew. 4000) auf Schamottmehl (der Sterchamol-Werke, Dortmund) als stationärer Phase getrennt. Abbildung 8 zeigt das Chromatogramm eines Säuregemisches und Abbildung 9 das Chromatogramm eines Weines.

Neben Essigsäure kommen im Wein noch Propion-, Butter- und Valeriansäure vor. Eine solch scharfe und schnelle Trennung der einzelnen Fettsäuren ist mit anderen Methoden nicht zu erzielen. Dieses Verfahren ist zur Kontrolle von Weinen allgemein anwendbar. Denn ein höherer Gehalt an flüchtigen Säure kann z.B. durch fehlerhaften Weinausbau (Essigstich) hervorgerufen

*) z.B. Rubarth u. Co. Hannover, Ikarus-Allee 3., oder auch Dr. Virus K.G., Bonn.

werden. Gerade bei der Beurteilung von Neuzüchtungen ist aber die Kontrolle des oft in kleinen Gebinden ausgebauten Weines auf solche Behandlungsfehler unerlässlich.

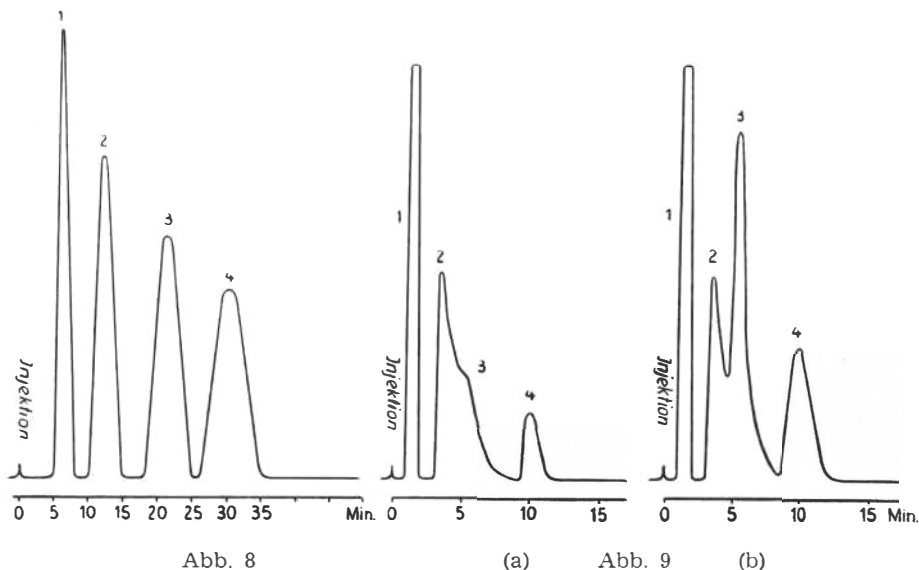


Abb. 8. Gaschromatische Auftrennung eines künstlichen Fettsäuregemisches. Die Banden entsprechen folgenden Säuren: Essigsäure (1), Propionsäure (2), Buttersäure (3), Valeriansäure (4).

Abb. 9. a: Gaschromatographische Auftrennung der Fettsäuren eines 57er Weines mit Essigstich.

Essigsäure (1), Propionsäure (2), Buttersäure (3), Valeriansäure (4).

b: Zeigt das Chromatogramm des gleichen Weines bei vorherigem Zusatz von reiner Propion- und Valeriansäure.

Trennsäule: 1 m (0,6 cm Durchmesser) Polyäthylenglykol (Molgew. 4000) auf Schamottmehl (Sterchamol der Sterchamolwerke Dortmund) im Verhältnis 3:10, Säulentemperatur: 159° C. Durchfluß an Trägergas Wasserstoff: 39,0 ml/min.

Neben Säuren lassen sich auch Alkohole als solche und nach Benzoylierung in Form der Benzoesäureester analysieren, wie Abb. 10 und 11, S. 309 zeigen. E. BAYER, G. KUPFER und K.-H. REUTHER (18) haben die Anwendung der Gas-Verteilungschromatographie zur Untersuchung von Aromastoffen aufgezeigt. Auch die Hydrooxycarbonsäuren des Weines können gaschromatographisch nach BAYER und REUTHER (4) bestimmt werden. Die Anwendungsmöglichkeiten der Gas-Verteilungschromatographie für die verschiedensten Probleme der Weinforschung erscheinen sehr mannigfaltig.

Die hier beschriebenen Methoden werden hier zur Kontrolle der Neuzüchtungen zum Teil seit Jahren routinemäßig benutzt und haben bei der Qualitätszüchtung wertvolle Dienste geleistet.

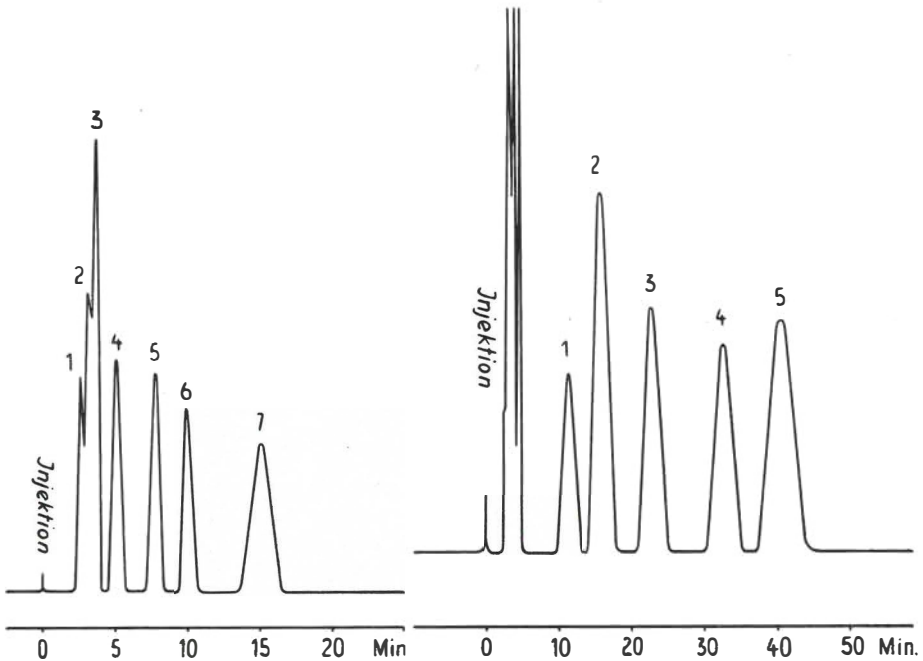


Abb. 10

Abb. 11

Abb. 10. Gaschromatographische Trennung von Alkoholen. Methylalkohol (1), Äthylalkohol (2), i-Propylalkohol (3), n-Propylalkohol (4), i-Butylalkohol (5), n-Butylalkohol (6) und i-Amylalkohol (7). Säule wie in Abb. 9, S. 308. Temperatur: 113° C. Trägergasdurchfluß: 37,5 ml H₂/min.

Abb. 11. Gaschromatographische Trennung der Benzoesäureester von Methylalkohol (1), Äthylalkohol (2), n-Propylalkohol (3), n-Butylalkohol (4) und i-Amylalkohol (5). Temperatur: 187° C. Trägergasdurchfluß: 39,0 ml H₂/min.

III. Beschreibung der Bestimmungen

a. Quantitative Glukose- und Fruktosebestimmung durch papierchromatographische Auftrennung und quantitative Bestimmung mittels Triphenyl-Tetrazolium-chlorid.

0,05 - 0,1 ml der zwischen 500 - 100 γ enthaltenden Zuckerlösungen (Traubensaft, Wein) werden in 4 - 6 cm großen Streifen an der Startlinie von Chromatographiepapier 2043 bM (Schleicher und Schüll) aufgetragen. Absteigend wird nun 48 Stunden mit einem Lösungsmittelgemisch von Butanol/Ameisensäure/Wasser 1024:200:90 chromatographiert. In einem Abstand von 4 cm trägt man außerdem noch einen Tropfen der zu chromatographierenden Lösung auf

und stellt hierdurch ein Leitchromatogramm her zur Erkennung der Papiersektoren, in denen sich die Zucker befinden. Nach der angegebenen Laufzeit wird im Ventilator-trockenschrank bei 50°C getrocknet, der Papierstreifen so auseinander geschnitten, daß Leitchromatogramm und eigentliches Chromatogramm als getrennte Streifen vorliegen. Das Leitchromatogramm wird nun mit 0,2 prozentiger Lösung von p-Anisidin in n/10 alkoholischer Phosphorsäure besprüht und die Flecken an ihrer Braun- bzw. Gelbbraunfärbung erkannt. Die auf diese Weise ermittelten, der Glukose bzw. Fruktose entsprechenden Sektoren werden nun aus dem nicht besprühten Chromatogramm ausgeschnitten. Die Papierstreifen werden mittels Wasser eluiert nach der von FLESCH und JERCHEL (2) angegebenen Weise. Bei dieser Methode erhält man etwa 1 - 2 ml Glukose- oder Fruktose-Lösung. Man füllt auf genau 3 ml auf, fügt 0,5 ml einer 2%-igen wässrigen Triphenyltetrazolium-chlorid-Lösung hinzu und 0,5 ml 1 n NaOH. Diese Lösung wird sofort in ein bereits siedendes Wasserbad eingehängt und nach 3-minütigem Erhitzen 10 Minuten in einem Eiswasserbad abgekühlt. Sofort nach dem Einstellen in das Eiswasserbad gibt man 1 ml einer 2,2n Essigsäure hinzu. Man deckt das Eisbad ab (Lichtempfindlichkeit!). Nach dem Abkühlen im Eisbad wird die Lösung mit Isopropylalkohol auf 20 ml aufgefüllt, durchgeschüttelt und nach 20-minütigem Stehen bei Raumtemperatur am Spektralphotometer bei 485m μ die Extinktion der roten Farbe gegen Wasser als Vergleichslösung abgelesen. Aus der Extinktion erhält man nach der in Abbildung 12, wiedergegebenen Eichkurve direkt die Mengen Glukose bzw. Fruktose.

Die Bestimmung ist auf $\pm 5\%$ genau.

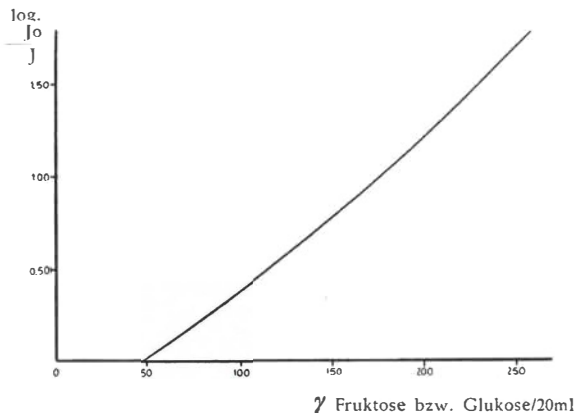


Abb. 12. Eichkurve zur kolorimetrischen Fruktose- bzw. Glukose-Bestimmung mittels Triphenyl-tetrazolium-chlorid.

b. Papierchromatographische Trennung und Nachweis der Hybriden-Anthocyane.

10 ml Wein oder Traubensaft werden im Vakuum auf 1 ml eingengt und von dieser Lösung 0,001 - 0,05 ml an der Startlinie von Chromatographiepapier Schleicher und Schüll 2043 bM aufgetragen. Am besten hat sich die Rundfiltermethode (17) mit dem Papier zwischen zwei Glasplatten (30x30x0,5

cm) bewährt. Die untere Platte ist zentrisch mit einer Durchbohrung für den Docht zur Lösungsmittelschale versehen. Man läßt mit Butanol:Eisessig:Wasser (Organische Phase) wandern. Die Anthocyane der Hybriden werden aus den charakteristischen Wanderungsstrecken (vgl. Abb. 6, Seite 305) und an der ziegelroten Fluoreszenz des Anthocyans 4 im U-V-Licht erkannt.

Es genügt auch zur Erkennung des Anthocyans 4 und damit zur Erkennung von Hybridenwein oder Hybridenmost einen Tropfen der eingeeigneten Probelösung auf Filtrierpapier aufzutragen und die bei Anwesenheit der Hybridenanthocyane charakteristische, ziegelrote Fluoreszenz zu beobachten.

Zusammenfassung

Die chromatographischen Methoden sind zur Beurteilung der Weinqualität und damit als Hilfsmethode bei der Qualitätszüchtung geeignet.

Die Bestimmung von Zuckern, Säuren, Farbstoffen, Aromastoffen wird erläutert und auf die Anwendung der Gaschromatographie zur Untersuchung verschiedener Inhaltsstoffe von Weinen oder Traubenmosten hingewiesen.

Literaturverzeichnis

1. RADLER, F.: Untersuchungen über die experimentelle Durchführung des biologischen Säureabbaues. *Vitis* 1, 42—52 (1957).
2. FLEISCH, P. und D. JERCHEL: Papierchromatographie und Ionenaustausch zur qualitativen Bestimmung organischer Säuren im Wein. *Wein-Wissenschaft* 9, 2 (1955).
3. ISHERWOOD, F. A. and C. S. HANES: Separation and estimation of organic acids on paper chromatograms. *Biochem. J.* 55, 824 (1953).
4. BAYER, E. und K.-H. REUTHER: Gaschromatographische Analyse von Hydroxycarbonsäuren und Dicarbonsäuren. Im Druck.
5. AMERINE, M. A. and G. THOUKIS: The glucose-fructose ratio of California grapes. *Vitis* 1, 224—229 (1958).
6. WALLENFELS, K., E. BERNT und G. LIMBERG: Quantitative Bestimmung reduzierender Zucker durch Papierchromatographie. *Angew. Chemie* 65, 581 (1953).
7. HUSFELD B.: Aussichten auf Qualitätsreben bei der Resistenzzüchtung. *Der Deutsche Weinbau* 7, 539—540 (1952).
8. BAYER, E. und K.-H. REUTHER: Papierchromatographische Bestimmung von Carbonsäureestern und Anwendung zur Analyse von Aromastoffen. *Angew. Chemie* 68, 698 (1956).
9. — — : Die Carbonsäureester des Weines und der Trauben. *Vitis* 1, 34—41 (1957).
10. — — : Aliphatische Aldehyde des Weines und der Trauben. *Vitis* 1, 93—95 (1957).
11. WILLSTÄTTER, R. und H. ZOLLINGER: *Liebigs Ann. Chem.* 408, 83 (1915).
12. ARNOLD, A. und K. WEGMANN: Unveröffentlichte Versuche. Vgl. B. HUSFELD: Über papierchromatographische Untersuchung der Säuren des Weines. Niederschrift der 2. Tagung des Bundes-Ausschusses für Weinforschung in Weinsberg, 15.—17. 11. 1958, S. 48.
13. RIBÉREAU-GAYON, P.: Differentiation des matières colorantes des raisins et des vins des cépages français et hybrides. *Comptes rend. Acad. Agric.* 39, 800 (1953).
14. — — , P. SUODRAUD et P.-M. DURQUETY: Relations entre génétique et nature chimique des pigments anthocyaniques de la baie dans le genre *vitis*. *Rev. gén. Botanique* 62, 667 (1955).
15. JAMES, A. T., and A. J. P. MARTIN: *Biochem. J.* 50, 679 (1952).
16. MCINNES, A. G.: Practical notes on gas-liquid chromatography as applied to the estimation of volatile fatty acids, in *Desty Vapour Phase Chromatography*. Butterworths Scientific Publ. London 1956, s. 304.

17. Vgl. F. CRAMER: Papierchromatographie. Verlag Chemie, Weinheim, 4. Auflage.
18. BAYER, E., G. KUPFER und K.-H. REUTHER: Anwendung der Gaschromatographie zur Analyse künstlicher und natürlicher Aromastoffe, Z. analyt. Chem. Im Druck; nach einem Vortrag von E. BAYER auf der Tagung der GdCh-Fachgruppe „Analytische Chemie“ in Essen, 22. — 24. 1. 1958; ref. Ang. Chemie **70**, 191 (1958).
19. — — :Separation of derivatives of amino acids using gas-liquid chromatography. preprint, 2nd Symposium on Gas Chromatography, Amsterdam Mai 1958; vgl. E. BAYER, F. BORN und K.-H. REUTHER: Angew. Chemie **69**, 640 (1957).

eingegangen am 12. 8. 1958