

Research Note

Nachweis und Bestimmung von 2-Aminoacetophenon in vergorenen Modelllösungen

A. RAPP¹⁾, G. VERSINI²⁾ und L. ENGEL¹⁾

Zusammenfassung: Durch zweidimensionale Gaschromatographie und unter Verwendung eines spezifischen Stickstoffdetektors (NPD) kann 2-Aminoacetophenon noch bis zu Gehalten von 20 ng/l quantitativ bestimmt werden. In Weinen wurden bisher Gehalte von 20 ng/l bis 2500 ng/l nachgewiesen. In Gärversuchen mit synthetischen Nährlösungen wurde eine von der N-Quelle und der Zusammensetzung des Gärsubstrates abhängige Bildung von 2-Aminoacetophenon festgestellt; mit Tryptophan als einziger N-Quelle wurden die größten Mengen 2-Aminoacetophenon gebildet.

Determination of 2-aminoacetophenone in fermented model wine solutions

Summary: Using twodimensional GC in combination with a nitrogen-specific detection, 2-aminoacetophenone can be determined quantitatively up to 20 ng/l. In wines concentrations between 20 and 2,500 ng/l could be found. In fermentation experiments with synthetic media a significant influence of the medium composition, especially the nitrogen source, is ascertained. In the case of tryptophane as N source the highest amount of 2-aminoacetophenone is synthesized.

Key words: 2-aminoacetophenone, fermentation.

Einleitung: 2-Aminoacetophenon wurde von RAPP *et al.* (1993) als die verursachende Komponente der "untypischen Alterungsnote" identifiziert. Diese unerwünschte Aromanote tritt seit einigen Jahren mit unterschiedlicher Intensität in deutschen Weinen auf und führt oft zu Ablehnungen bei der Qualitätsweinprüfung. Um in Zukunft Weine erzeugen zu können, die frei sind von dieser qualitätsmindernden Aromanote, sind umfassende Untersuchungen über den Einfluß vieler Faktoren (Ertrag, Düngung, Rebsorte usw.) auf die Bildung dieser Komponente erforderlich, so auch deren Bildung bei der alkoholischen Gärung.

Material und Methoden: Modellösungen (200 g/l Saccharose, pH mit Weinsäure auf 3,5 eingestellt) werden mit einer oder mehreren N-Quellen (Aminosäuren, Ammonsalzen) versetzt, pasteurisiert und mit verschiedenen Trockenreinzuchthefen (*Saccharomyces cerevisiae*, Han-

delspräparate) bei 18-20 °C vergoren. Tryptophan wird erst nach der Sterilisation (Vermeidung von Artefaktbildung) zugesetzt.

Nach beendeter Gärung und Zusatz einer definierten Menge Standard (2,4-Dichloranilin) werden die Proben nach der von RAPP *et al.* (1976) beschriebenen Methode mit Trichlorfluormethan extrahiert. Vor der gaschromatographischen Analyse werden 5-10 ml der Extrakte in einem Spitzkölbchen über eine Vigreux-Kolonnen vorsichtig (Wasserbadtemperatur 30 °C) auf 50-100 µl eingengt. Nach Abkühlen der Extraktionsrückstände wird mit einer gekühlten Injektionspritze 1 µl auf die Trennsäule gegeben.

Die Auftrennung geschieht mit der von RAPP und ENGEL (1995) beschriebenen Methode unter Anwendung der zweidimensionalen Kapillargaschromatographie im on-line-Modus. Die quantitative Auswertung erfolgt über die Messung der Peakhöhen bzw. Peakflächen des stickstoffspezifischen Detektors. Durch Relativierung der Meßwerte von Probe und Eichlösung auf jeweils gleiche Intensitäten des zugesetzten Standards kann der Fehler bei der Anreicherung und gaschromatographischen Analyse ausgeglichen/korrigiert werden. Nachweisgrenze: 20 ppt (ng/l).

Ergebnisse und Diskussion: Mit Hilfe der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analysenmethode unter Einsatz der SIM-Technik kann eine quantitative Bestimmung von Einzelkomponenten mit eindeutiger Peakerkennung erfolgen. Die Nachweisempfindlichkeit dieser Technik für die Bestimmung von 2-Aminoacetophenon liegt nach unseren Ergebnissen jedoch nur bei etwa 0,8 µg/l. Durch Einsatz eines stickstoffspezifischen Detektors (NPD) kann die Nachweisgrenze wesentlich verbessert werden. Jedoch kann es bei dem aus mehreren hundert Einzelkomponenten bestehenden Aromakonzentrat aus Wein, selbst bei Anwendung langer (60 m) hochauflösender Kapillarsäulen, Peaküberlagerungen mit anderen N-Verbindungen geben, wodurch eine exakte Bestimmung von 2-Aminoacetophenon im Spurenbereich (ppt) trotz Einsatz eines N-spezifischen Detektors nicht gewährleistet ist.

Um die gegenüber der GC-MS (SIM)-Technik wesentlich bessere Nachweisempfindlichkeit von N-Verbindungen mit Hilfe des NP-Detektors nutzen zu können, ist unbedingt eine einwandfreie Abtrennung von 2-Aminoacetophenon erforderlich. Durch Einsatz der zweidimensionalen GC-Technik gelang es, diese wichtige Voraussetzung zu erreichen (RAPP und ENGEL 1995). Durch eine on-line-Überführung des Bereichs, in dem 2-Aminoacetophenon auf Trennsäule I eluiert wird (42. bis 44. Minute), auf eine zweite Kapillarsäule anderer Polarität, ist eine sichere Abtrennung möglich.

Mit dieser Methode konnten wir in fast allen der bisher untersuchten Weine 2-Aminoacetophenon nachweisen, mit Gehalten von 20 bis 2.500 ng/l. Bei Konzentrationen von mehr als etwa 700 ng/l kann die unerwünschte Aromanote ("Naphthalin-Ton", "Hybridton") sensorisch erkannt werden.

In der vorliegenden Untersuchung wurde diese Methode auch eingesetzt zur quantitativen Bestimmung der

¹⁾ Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Inst. für Rebenzüchtung Geilweilerhof, D-76833 Siebeldingen, Germany.

²⁾ Istituto Agrario, I-38010 San Michele all Adige, Trento, Italy.

Tabelle

Bildung von 2-Aminoacetophenon bei der alkoholischen Gärung (synthetische Modelllösungen: 200 g/l Saccharose, pH 3,5)
 Formation of 2-aminoacetophenone during fermentation (synthetic media: 200 g/l sucrose, pH 3.5)

N-Quelle/Substrat	2- Aminoacetophenon ($\mu\text{g/l}$) bezogen auf die Bildung von 80 g/l Ethanol		
	A	B	C
1,0 g/l L-Tryptophan	0,25	0,15	*
" + 0,5 g/l Difco (ohne Aminosäure)	0,14	0,09	*
" " + 10 mg/l Thiamin	0,18	0,13	*
" " + 1,5 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,09	0,10	*
" " " + 10 mg/l Thiamin	0,15	0,11	*
1,5 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,08	0,06	0,04
" + 10 mg/l Thiamin	0,10	0,07	0,09
" + 0,5 g/l Difco (ohne Aminosäure)	0,05	0,05	0,06
" + 1,0 g/l L-Tryptophan	0,16	0,09	0,12

A, B, C: verschiedene Trockenreinzuchthefen (*Saccharomyces cerevisiae*) des Handels
 * nicht untersucht

geringen Mengen (ppt-Bereich) von 2-Aminoacetophenon, die bei der alkoholischen Gärung gebildet werden. Nach Vergärung von synthetischen Modelllösungen fanden wir deutliche Unterschiede im Gehalt des bei der Hefegärung gebildeten 2-Aminoacetophenon in Abhängigkeit von der Substratzusammensetzung. Einige Beispiele für L-Tryptophan und $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sind in der Tabelle dargestellt. Von allen bisher untersuchten N-Quellen fanden wir bei der Vergärung von L-Tryptophan die höchsten Gehalte an 2-Aminoacetophenon; dies gilt für alle getesteten Hefen, jedoch mit unterschiedlicher Intensität (Tabelle). Im Falle von L-Tryptophan als einziger N-Quelle führt eine Erhöhung der Konzentration des Hefe-Basismediums im Gärsubstrat zu einer deutlichen Verminderung der 2-Aminoacetophenon-Bildung. Eine ähnliche Verminderung wird auch durch Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zum Gärsubstrat mit

L-Tryptophan als einziger N-Quelle erreicht. Die von uns bisher ermittelten, aus dem Hefestoffwechsel stammenden Mengen von 2-Aminoacetophenon sind, mit Ausnahme bei Tryptophan als einziger N-Quelle, zu gering, um die unerwünschte Aromenote im Wein hervorrufen zu können.

- RAPP, A.; VERSINI, G.; ULLEMEYER, H.; 1993: 2-Aminoacetophenon: Verursachende Komponente der "untypischen Alterungsnote" ("Naphthalin-Ton", "Hybridton") bei Wein. *Vitis* **32**, 61-62.
- -; HASTRICH, H.; ENGEL, L.; 1976: Gaschromatographische Untersuchungen über die Aromastoffe von Weinbeeren. I. Anreicherung und kapillarchromatographische Auftrennung. *Vitis* **15**, 29-36.
- -; ENGEL, L.; 1995: Zur quantitativen Bestimmung von 2-Aminoacetophenon mit zweidimensionaler Kapillarchromatographie. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* (in Vorbereitung).