

Quantifizierung von polymeren phenolischen Verbindungen in Wein mittels Mixed-Mode-Phasen HPLC

E. Schmalfuß¹, F. Weber², P. Winterhalter^{1*}

¹Technische Universität Braunschweig | Institut für Lebensmittelchemie

²Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn | Institut für Lebensmitteltechnologie und -biotechnologie

* p.winterhalter@tu-braunschweig.de | Telefon +49 (0) 531 391-7202

Einleitung

Phenolische Verbindungen sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe der Weintraube, die für die sensorischen Eigenschaften wie Farbe und Geschmack verantwortlich sind. Durch Weinbereitung und Weinalterung unterliegen Polyphenole zahlreichen chemischen Reaktionen, die unter anderem zu einer Bildung polymerer phenolischer Verbindungen führen, Abbildung 1 [1]. Diese Polymere haben einen Einfluss auf die Farbeigenschaften und das Mundgefühl eines Rotweines. So wirken Weine mit zunehmendem Alter braun und verlieren ihren adstringierenden Geschmack [2]. Um Zusammenhänge zwischen Weinalter und sensorischen Eigenschaften eines Weines darzustellen, wird eine Mixed-Mode-Phasen HPLC Methode angewandt, die die Quantifizierung von polymeren phenolischen Verbindungen im Wein ermöglicht. Die Kombination aus Anionenaustauscher und Reversed-Phase Material (RP) wandelt den „Polymerhump“ des RP-Materials in einen scharfen Polymerpeak um, der somit die Quantifizierung von polymeren Polyphenolen gestattet [3].

Methoden

Der Methylcellulose-Präzipitations-Assay (MCP-Assay) und der Harbertson-Adams-Assay (H-A-Assay) beruhen auf Fällungsreaktionen mit Methylcellulose beziehungsweise Rinderserumalbumin. Die schematische Versuchsdurchführung ist in Abbildung 2 dargestellt.

Ergebnisse

Die Quantifizierung der polymeren phenolischen Verbindungen im Spätburgunder mittels Mixed-Mode-Phasen HPLC (MMP-HPLC) erfolgt über (+)-Catechin- und Malvidin-3-glucosidäquivalente, siehe Abbildung 3. Dabei zeigt sich, dass der Anteil phenolischer Verbindungen, die bei $\lambda=280\text{nm}$ absorbieren, um das 10,5-fache größer ist als der Anteil polymerer phenolischer Verbindungen, die ein weiteres Absorptionsmaximum $\lambda=520\text{nm}$ besitzen.

Des Weiteren sind die Polymerkonzentrationen bei $\lambda=280\text{nm}$ höher als die Konzentrationen des MCP-Assays, siehe Abbildung 3, oben. Der durchschnittliche Tanningehalt liegt bei der MMP-HPLC Methode mit 247,14 mg/L um das 1,4-fache über dem Tanningehalt des MCP-Assays. Ein Zusammenhang zwischen Alter und Polymergehalt kann allerdings nicht gezeigt werden, da kein stetiger Anstieg des Polymergehaltes über die Jahrgänge hinweg verzeichnet wird.

Durch den Vergleich der drei Untersuchungsmethoden zeigt sich, dass dieselben Tendenzen über die Jahrgänge hinweg verzeichnet werden. Diese werden beispielsweise bei „Jahrgangsaußereißern“ deutlich, siehe 2003er Spätburgunder.

Somit konnte eine HPLC Methode entwickelt werden, die die quantitative Bestimmung der polymeren Polyphenole unabhängig von Fällungsreaktionen ermöglicht.

Zusammenfassung

Die Mixed-Mode-Phasen HPLC ermöglicht die Bestimmung von sowohl monomeren und oligomeren als auch polymeren phenolischen Verbindungen, da dieses Phasenmaterial einen quantifizierbaren Polymerpeak erzeugt. Der Vergleich der chromatographischen HPLC Methode mit den spektralphotometrischen Untersuchungen zeigt, dass die Quantifizierung des Polymergehaltes möglich ist, weil die Polymerkonzentrationen im Spätburgunder über die Jahrgänge hinweg denselben Verlauf zeigen. Allerdings zeigen sich Unterschiede im Polymergehalt, so sind die Gehalte, die mittels Mixed-Mode-Phasen HPLC bestimmt werden, höher als die Polymergehalte der spektralphotometrischen Untersuchungsmethoden.

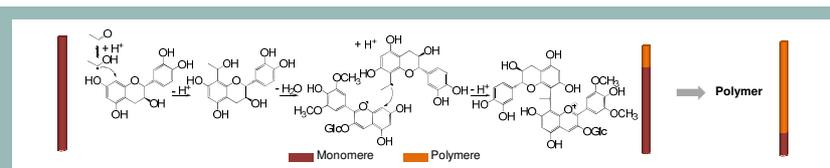


Abbildung 1: Polymerisationsprozess am Beispiel von (+)-Catechin und Malvidin-3-glucosid [4]

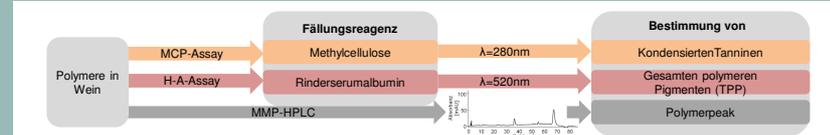


Abbildung 2: Schematische Darstellung der spektralphotometrischen Methoden und der chromatographischen Methode

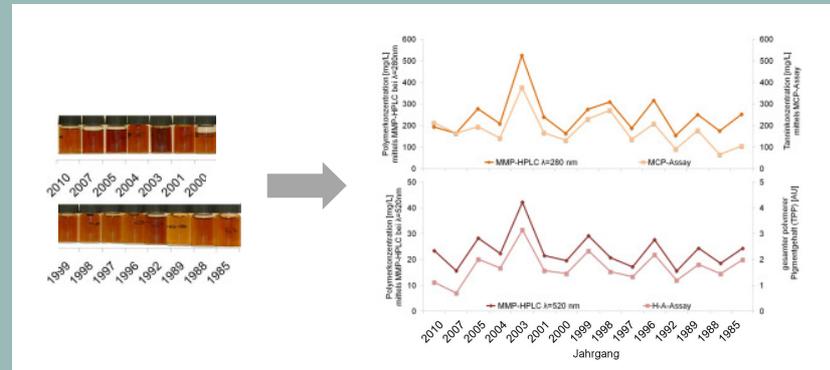


Abbildung 3: Vergleich der polymeren phenolischen Verbindungen zwischen der Mixed-Mode-Phasen-HPLC und dem Methylcellulose-Präzipitations-Assay (oben) und dem Harbertson-Adams-Assay (unten)

[1] Somers, T. C. (1971). "The polymeric nature of wine pigments." *Phytochemistry* 10: 2175-2186.
 [2] Cheynier, V., Dufrasne-Paton, M., Selas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sami-Manchado, P. und Fukuro, H. (2006). "Structure and properties of wine pigments and tannins." *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 298-305.
 [3] Vergara, C., Mardones, C., Hermosin-Gutiérrez, I. und von Baer, D. (2010). "Comparison of high-performance liquid chromatography separation of red wine anthocyanins on a mixed-mode ion-exchange reversed-phase and on a reversed-phase column." *Journal of Chromatography A* 1217(36): 5710-5717.
 [4] Timberlake, C. F., Bridle, P. (1976). "Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines." *American Journal of Enology and Viticulture* 27(3): 97-105.