

GASCHROMATOGRAPHISCHE ÜBERPRÜFUNG VON GESAMTESTERGEHALT UND FURFURALREAKTION BEI DER DESTILLATANALYTIK

WALTER BRANDES UND REINHARD BAUMANN

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: Walter.Brandes@weinobst.at

In der vorliegenden Arbeit wurde die Möglichkeit untersucht, die im Codex B 23 bei Qualitätsobstbrand vorgeschriebene Bestimmung der Parameter "Gesamtester" und "Furfuralreaktion" durch gaschromatographische Bestimmung von Furfural und einer Reihe von Estern zu ersetzen. Bei Furfural erscheint dieser Ersatz auf Grund der Resultate problemlos möglich und verspricht eine Erhöhung der Robustheit und Empfindlichkeit. Auch bei der Gesamtesterbestimmung deutet sich diese Möglichkeit der Methodenvereinfachung an. Durch die insgesamt sehr niedrigen Estergehalte in den Proben und die damit verbundene geringe Zahl an den Kennzahlen des Codex entsprechenden Destillaten ist hier die Aussagekraft eingeschränkt. Die gefundenen Furfural- als auch Estergehalte lassen die Frage berechtigt erscheinen, in welchem Ausmaß die im Codex genannten Kennzahlen und Grenzwerte überhaupt noch zeitgemäß sind.

Schlagwörter: Codex B 23, Gesamtester, Furfural, GC

Gas chromatographic examination of total ester content and furfural reaction in distillate analysis. The present work examines the possibility of substituting the parameters "total ester content" and "furfural reaction", which are prescribed by the Codex B 23 for quality fruit distillates, by gas chromatographic determinations of furfural and a number of esters. In the case of furfural, this substitution appears feasible without any problems due to our results and promises an increase in robustness and sensitivity. Also for determination of total ester content, this possibility of simplifying the method is indicated. Due to the overall very low ester contents in the samples and the associated low number of distillates meeting the Codex regulations, the validity is limited here. The determined furfural and ester contents raise the question, to which extent regulations and limit values prescribed by the Codex are still up-to-date.

Keywords: Codex B 23, total ester content, furfural, GC

Neben der Sensorik stellt die Analytik wie bei vielen anderen Lebens- und Genussmitteln ein zentrales Element der Überprüfung dar. Ziel der analytischen Untersuchungen sind bei Obstdestillaten vor allem die Merkmale Toxizität, Verderb und Unverfälschtheit, wobei eine strikte Trennung nicht in jedem Fall eindeutig möglich ist.

Typische Toxizitätsparameter sind etwa der Blausäuregehalt oder jene des daraus gebildeten Ethylcarbamats, während als Verderbsparameter die Gehalte an titrierbarer Säure oder Ethylacetat zu nennen sind.

Ein großer Teil der im Codex festgelegten Grenzwerte dient der Überprüfung der Herstellungsverfahren. Einige Parameter betreffen dabei sogenannte Gärungsnebenprodukte, wie etwa die Fuselalkohole, andere wie der Methanolgehalt das verwendete Ausgangsmaterial, da Methanol aus dem Pektin der gemaischten Früchte gebildet wird und der Codex dementsprechend trotz seiner Toxizität nicht nur Maximal- sondern auch Mindestgehalte vorschreibt.

Furfural entsteht ebenso wie Methanol im Zuge der Destillatgewinnung, und zwar aus in den Früchten vorhandenen Pentosen unter Säure- und Hitzeeinwirkung. Diese Reaktion verläuft unter bestimmten Bedingungen so stöchiometrisch, dass aus dem Furfuralgehalt rückwirkend auf den Pentosegehalt geschlossen werden kann. Der Codex beschränkt sich diesbezüglich auf den qualitativen Nachweis von Furfural im Destillat, ohne einen Mindestgehalt zu nennen.

Ester spielen sowohl für die Sensorik als auch für die rechtliche Beurteilung von Destillaten eine herausragende Rolle. Einige Verbindungen stellen dabei originäre Fruchtbestandteile dar, wie beispielsweise die verschiedenen Isomere der Methyl- und Ethylester der 2,4-Decadiensäure bei der Birne, und hier besonders bei der Sorte Williams Christ (JENNINGS et al., 1964; BATTAGLIA, 1986). Eine große Vielfalt an Estern entsteht jedoch im Zuge der Gärung durch Veresterung von gebildeten Säuren. Während Essigsäure, Milchsäure und vor allem Buttersäure in größerem Ausmaß von Bakterien gebildet werden (FREITAG, 2006), ist bei den

mittel- und langkettigen Fettsäuren vor allem die Hefe der Hauptproduzent (TORIJA et al., 2003; BARDI et al., 1999; LAFON-LAFOURCADE et al., 1984; SPONHOLZ et al., 1981). Die nachfolgende enzymatische Veresterung dieser Säuren mit Ethanol wird von BARDI et al. (1998) als ein Weg der Entgiftung vieler in höheren Konzentrationen für die Hefe schädlichen Fettsäuren beschrieben. Daneben erscheint speziell in der Obstbrennerei die direkte, chemische Veresterung der Fettsäuren mit dem im Feinbrand in hoher Konzentration vorliegenden Ethanol denkbar.

Ungeachtet ihrer Entstehung sind Ester ein zwingend vorhandener Inhaltsstoff von Obstbränden und tragen wesentlich zur Sensorik bei. Der Codex trägt dieser Tatsache bei Edelbränden durch drei Parameter Rechnung.

1. Gehalt an Gesamtestern (Mindest- und Maximalgehalt)
2. Gehalt an Gesamtestern vermindert um den Gehalt an Ethylacetat (Mindestgehalt)
3. Prozentueller Anteil der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamttergehalt (Mindestgehalt)

Auf Grund der historischen Entwicklung sind für die Überprüfung der im Codex geforderten Grenzwerte nasschemische Methoden häufig anzutreffen. Manche dieser Methoden, wie etwa die Gesamtsäurebestimmung, sind von so großer Einfachheit, dass ein Ersatz durch instrumentelle Analytik wenig Verbesserungspotential birgt. Im Gegensatz dazu birgt die nasschemische Bestimmung bzw. der Nachweis der Gesamtster und des Furfurals eine Reihe von gravierenden Nachteilen.

Die Überprüfung auf den Furfuralgehalt bedient sich der Umsetzung mit Anilin in essigsaurer Lösung, wobei eine rötliche Färbung gebildet wird (FOLEY et al., 1952). Anilin ist toxisch und kanzerogen. Zusätzlich neigt es bei längerem Stehen unter Licht- und Luftzutritt zur Braunfärbung. Der Codex verlangt aus diesem Grund für die Reaktion frisch destilliertes Anilin, dessen Herstellung einen weiteren Aufwand dieser Methode darstellt.

Im Gegensatz dazu erfordert die Bestimmung der Gesamtster, wenn man von der Ätzwirkung verdünnter

Natronlauge und Salzsäure absieht, kein Arbeiten mit besonders gesundheitsschädlichen Substanzen. Limitierend ist hier vor allem der Zeitaufwand pro Bestimmung. Eine vollständige Verseifung aller Ester benötigt das Sieden am Rückfluss für 15 Minuten. Unter Berücksichtigung aller Probenvorbereitungen und nachfolgender Arbeitsschritte kann von einem Zeitaufwand von etwa 30 Minuten pro Probe ausgegangen werden. Eine mögliche Verringerung dieses Zeitaufwandes durch Serienanalysen ist durch die benötigten Apparaturen (Heizquellen, Rückflusskühler) nur in begrenztem Ausmaß möglich. Unter diesen Aspekten erscheint ein Ersatz sowohl der Furfural- als auch der Gesamtesterbestimmung durch bequemere Methoden wünschenswert. Als solche bietet sich die Gaschromatographie in besonderem Maße an. Dies gilt umso mehr, als für die Überprüfung einer Reihe anderer Parameter (Methanol, Fuselalkohole, Benzaldehyd) ohnehin eine gaschromatographische Analyse unverzichtbar ist und damit ein zusätzlicher Gerätekauf entfällt.

Vergleichsweise einfach erscheint diese Möglichkeit des Ersatzes bei der Furfuralbestimmung. Sowohl von der Empfindlichkeit, als auch der Linearität her, sind bei der Gaschromatographie keine Einbußen verglichen mit der Photometrie zu erwarten. Bezüglich der Robustheit verspricht die Gaschromatographie sogar eine Verbesserung, da im Codex größere Schwefeldioxid- und Kupferionenkonzentrationen als Störfaktoren angeführt werden. Diese Interferenzen sind bei der gaschromatographischen Furfuralbestimmung nicht zu erwarten.

Grundsätzlich anders stellt sich der Sachverhalt bei dem Parameter Gesamtester dar. Die nasschemische Bestimmung ist unter der Voraussetzung entsprechender Verseifbarkeit der in den Obstbränden vorhandenen Ester unter den Bedingungen der Bestimmung (und diese Voraussetzung ist prinzipiell gegeben) eine annähernd vollständige Bestimmung. Störfaktoren wären hier lediglich Substanzen, die wie Ester während des Siedens am Rückfluss mit Natronlauge unter Verbrauch dieser reagieren.

Im Gegensatz dazu kann eine allfällige gaschromatographische Analyse lediglich eine Auswahl der vorhandenen Ester bestimmen. Eine vollständige Erfassung aller

Ester ist methodisch nur sehr schwer möglich und würde dann durch die umfangreiche Methodenetablierung und -aufrechterhaltung keine Arbeitserleichterung mehr zur Nasschemie darstellen.

Unter diesem Aspekt ist vorhersehbar, dass eine gaschromatographische Esterbestimmung im Vergleich zur Nasschemie, abgesehen von Analysentoleranzen, immer Minderbefunde erbringen wird. Kritisch sind hier vor allem die Parameter "Ester vermindert um Ethylacetat" und der "prozentuelle Anteil der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamtestergehalt", da hier durch die mengenmäßige Dominanz von Ethylacetat in nahezu jedem Obstdestillat der Fehlbetrag nicht bestimmter Ester am stärksten zu Buche schlägt. Das Ziel muss daher ein Kompromiss zwischen möglichst hoher Praktikabilität einerseits, und einer möglichst hohen Übereinstimmung der Ergebnisse andererseits sein. Entscheidend für die Übereinstimmung sind dabei weniger die absoluten Zahlen, sondern die Beurteilung nach den Codex-Grenzwerten. Das heißt, die Anzahl der je nach Methodik unterschiedlich beurteilten Proben sollte möglichst gering sein.

Ziel der hier beschriebenen Arbeit war der Versuch, die nasschemischen Methoden zur Bestimmung der Parameter Furfural und Gesamtester durch gaschromatographische Analyse zu ersetzen.

MATERIAL UND METHODEN

PROBEN

Untersucht wurden sowohl österreichische als auch ausländische Obstdestillate, und zwar 48 Apfel-, 62 Birnen-, 42 Marillen-, 45 Zwetschken- und 48 Kirschenbrände. Von diesen waren 17 Apfel-, 26 Birnen-, 12 Marillen-, 19 Zwetschken- und 22 Kirschenproben als Edelbrand deklariert. Keine Probe enthielt die Bezeichnung "Schnaps", in Bezug auf die Herstellung wären daher alle theoretisch Qualitätsobstbrände.

CHEMIKALIEN

Essigsäuremethylester p.S. 99 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Essigsäureethylester ROTISOLV 99,5 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Essigsäure-n-butylester p.S. 99 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Essigsäure-isoamylester reinst 98 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Ethylhexanoat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) Hexylacetat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) Ethyl-L-lactat 98 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) Ethyloctanoat 98 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) Ethyldecanoat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethyldodecanoat 98 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethylmyristat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethylpalmitat 9 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethyllinoleat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethyllinolenat 98 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethylbenzoat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Diethylsuccinat 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethyl-2-trans-4-cis-decadienoat 97 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Furfural 99 % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Ethanol ROTIPURAN 99,8 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), di-Kaliumhydrogenphosphat p.A. (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Chloroform ROTISOLV 99,8 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), Tetrahydrofuran ROTISOLV 99,9 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland), 4-Methyl-2-pentanol 98, % (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), Natriumsulfat p.A. 99,5 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland).

Die Herstellung der verschiedenen Isomere der Methyl- und Ethylester der 2,4-Decadiensäure erfolgte nach BRANDES et.al. (2003).

MESSINSTRUMENTE

Alle gaschromatographischen Analysen wurden auf einem Gaschromatographen 7820A mit Flammenionisationsdetektor und automatischem Probengeber (alles: Agilent, Santa Clara, USA) durchgeführt.

PROBENVORBEREITUNG

100 ml Obstdestillat wurden in einen 500 ml Rundkol-

ben mit ca. 20 ml dest. Wasser versetzt. Davon wurden ca. 80 ml in einen Messkolben abdestilliert und nach Temperaturangleich auf ca. 20 °C auf 100 ml aufgefüllt und gemischt.

Vom egalisierten Destillat wurden 10 ml in einem Messkolben mit 100 µl Internem Standard (17,321 g/l Tetrahydrofuran und 15,945 g/l 4-Methyl-2-pentanol in Ethanol) versetzt und gemischt.

Diese Lösung wurde direkt für die gaschromatographische Bestimmung von Essigsäuremethyl- und Essigsäureethylester verwendet.

Für die Bestimmung aller anderen Ester und für Furfural wurden 3 ml aus dem 10 ml-Messkolben in einem Zentrifugenröhrchen nach Zugabe von 0,5 ml Chloroform mit 3 g di-Kaliumhydrogenphosphat versetzt und ca. 1 min am Vortexer gemischt. Nach Zentrifugation (5 min bei 6000 U/min) wurden 1,5 ml Überstand in einem Reagenzglas mit etwas Natriumsulfat getrocknet und anschließend gaschromatographisch analysiert.

ANALYTIK

Essigsäuremethyl- und Ethylester gaschromatographisch

GC-Trennsäule: ZB-WAX plus, 60 m Länge, 0,32 mm ID, Filmdicke 0,25 µm (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland)

Gasfluss: 2,0 ml/min konstant

Injektortemperatur: 245 °C

Injektion: Split 10:1

Injektionsvolumen: 1 µl

Temperaturprogramm:

Initialtemperatur 40 °C, Haltezeit 9 min

Heizen mit 40 °C/min auf 245 °C, Haltezeit 10 min

Detektortemperatur: 250 °C

Essigsäure-n-butylester, Essigsäure-isoamylester, Ethylhexanoat, Hexylacetat, Ethyl-L-lactat, Ethyloctanoat, Ethyldecanoat, Ethyldodecanoat, Ethylmyristat, Ethylpalmitat, Ethyllinoleat, Ethyllinolenat, Ethylbenzoat, Diethylsuccinat, Ethyl-2-trans-4-cis-decadienoat, Ethyl-

2-trans-4-trans-decadienoat, Methyl-2-trans-4-cis-decadienoat, Methyl-2-trans-4-trans-decadienoat und Furfural gaschromatographisch

GC-Trennsäule: ZB-WAX plus, 60 m Länge, 0,32 mm ID, Filmdicke 0,25 µm (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland)

Gasfluss: 2,5 ml/min konstant

Injektortemperatur: 250 °C

Injektionsvolumen: 1 µl

Injektion: Split 3:1

Temperaturprogramm:

Initialtemperatur 40 °C, Haltezeit 10 min

Heizen mit 5 °C/min auf 250 °C, Haltezeit 8 min

Detektortemperatur: 250 °C

Furfural photometrisch

2 ml der destillierten Probe wurden in einem Reagenzglas mit 20 µl Eisessig und 20 µl einer Mischung von 0,4 ml Anilin mit 1 ml Ethanol versetzt und gemischt. Nach 15 min erfolgte die Messung der Extinktion bei 515 nm. Die Kalibration erfolgte vor jeder Messung. Proben mit höheren Gehalten als 10 mg/l Furfural wurden mit 40%igem Ethanol entsprechend verdünnt, so dass die Konzentration innerhalb der Kalibrationskonzentrationen lag.

Zur Ermittlung der Fehleranfälligkeit der Farbreaktion wurden Kalibrationsreihen aus 1, 3, 5 und 10 mg Furfural unter folgenden Bedingungen ermittelt:

1. Kein Zusatz, Messung nach 15 min
2. Kein Zusatz, Messung nach 30 min
3. Zusatz von 1 mg/l Kupfer als Sulfat, Messung nach 15 min
4. Zusatz von 3 mg/l Kupfer als Sulfat, Messung nach 15 min
5. Zusatz von 5 mg/l Kupfer als Sulfat, Messung nach 15 min
6. Zusatz von 50 mg/l Schwefeldioxid als Natriumsulfit, Messung nach 15 min

7. Zusatz von 100 mg/l Schwefeldioxid als Natriumsulfit, Messung nach 15 min

Gesamttester nasschemisch

Die Bestimmung der Gesamttester erfolgte nach den Analysenmethoden des Codex B23.

KALIBRATION

GASCHROMATOGRAPHIE

Die Kalibration erfolgte mit Lösungen der analysierten Ester und von Furfural in 40%igem Ethanol in einem Konzentrationsbereich von ca. 1 bis 25 mg/l, die wie die Proben behandelt wurden.

PHOTOMETRIE

Die Kalibration erfolgte mit zwei Lösungen von Furfural in 40%igem Ethanol mit den Konzentrationen 5 mg/l und 10 mg/l.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

FURFURAL

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, erwies sich die Kalibration der photometrischen Detektion bis 10 mg/l als sehr gut linear. Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 30 min erhöht die Empfindlichkeit bei unveränderter Linearität etwa um den Faktor 1,5 (Abb. 2). Ein Gehalt von 50 mg/l Schwefeldioxid verringert die Empfindlichkeit etwa auf die Hälfte, die Linearität bleibt aber erhalten (Abb. 3). 100 mg/l Schwefeldioxid verringern die Empfindlichkeit etwa um den Faktor 3, und die Linearität nimmt zusätzlich im unteren Bereich deutlich ab (Abb. 4).

Als wesentlich anfälliger erwies sich die Reaktion gegen Kupferionen. Während ein Gehalt von 1 mg/l lediglich die Empfindlichkeit verringerte (Abb. 5) führten 3 und besonders 5 mg/l zum weitgehenden Verlust der Linearität (Abb. 6 und Abb. 7).

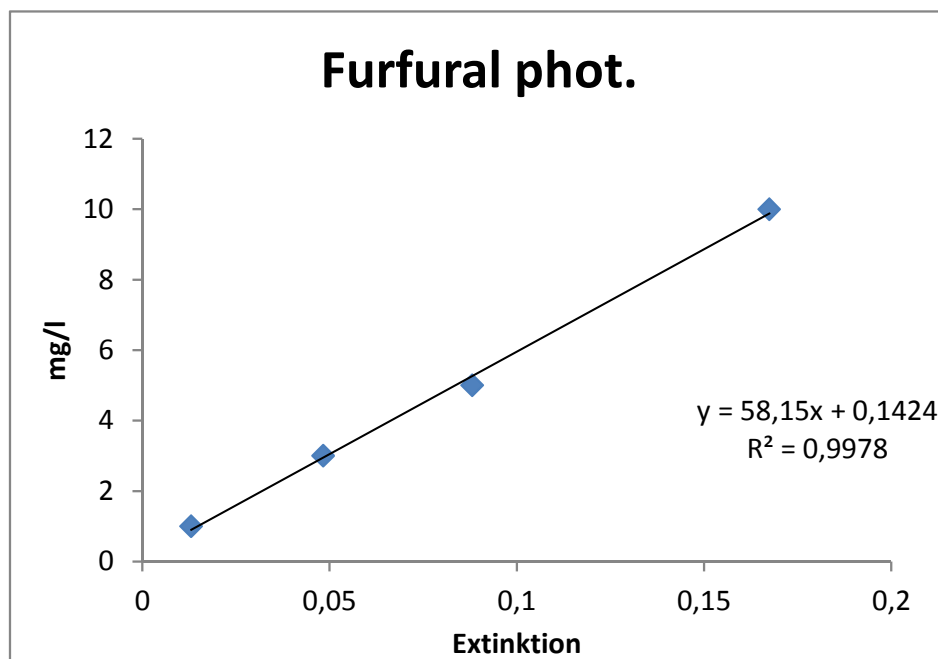


Abb. 1: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol nach 15 min Reaktionszeit

Der Codex fordert für österreichische Qualitätsobstbrände eine "deutlich positive" Furfuralreaktion. Bei visueller Kontrolle der Reagenzgläser nach 15 min vor weißem Hintergrund konnte eine Konzentration von 1 mg/l Furfural gerade noch als schwaches Rosa erkannt werden. Für eine deutlich positive Reaktion ist daher ein Mindestgehalt von etwa 1,5 bis 2 mg/l Furfural zu veranschlagen. Die Bestimmungsgrenze der gaschromatographischen Furfuralbestimmung lag bei ca. 0,5 mg/l und ist damit deutlich kleiner als der oben geforderte Wert. Die Regression der Ergebnisse Photometrie-Gaschromatographie (Abb. 8) belegt die sehr gute Übereinstimmung der beiden Methoden, und auch ein Student-Test erbrachte mit einer Signifikanz von 99 % das Ergebnis, dass die beiden Methoden übereinstimmende Resultate erbringen. Wie aus Abb. 9 ersichtlich, war die Übereinstimmung bei allen Obstarten sehr befriedigend. Auffallend ist der bei relativ vielen Proben geringe

Furfuralgehalt. Auf Grund der Farbreaktion wären 25 Apfelbrände, 35 Birnenbrände, 12 Marillenbrände, 19 Zwetschenbrände und 32 Kirschenbrände zu beanstanden gewesen. Alle diese Proben wiesen auch gaschromatographisch Furfuralgehalte von weniger als 1,5 mg/l auf. Auf Grund dieser Ergebnisse stellt sich die Frage, ob das Kriterium der positiven Furfuralreaktion den heutigen Verfahren der Obstdestillatgewinnung überhaupt noch gerecht wird. Vor allem die Innovationen in der Destillationstechnik, wie etwa die Destillation unter vermindertem Druck, führen vermutlich zu anderen Konzentrationen verschiedener Inhaltsstoffe von Obstbränden. Unter diesem Gesichtspunkt ist eine generelle Überprüfung verschiedener im Codex angeführten Qualitätskriterien überlegenswert.

Als problematisch erwies sich die Trennung des Furfurals von der Essigsäure, die oft in hoher Konzentration ein ubiquitärer Bestandteil aller Obstdestillate ist.

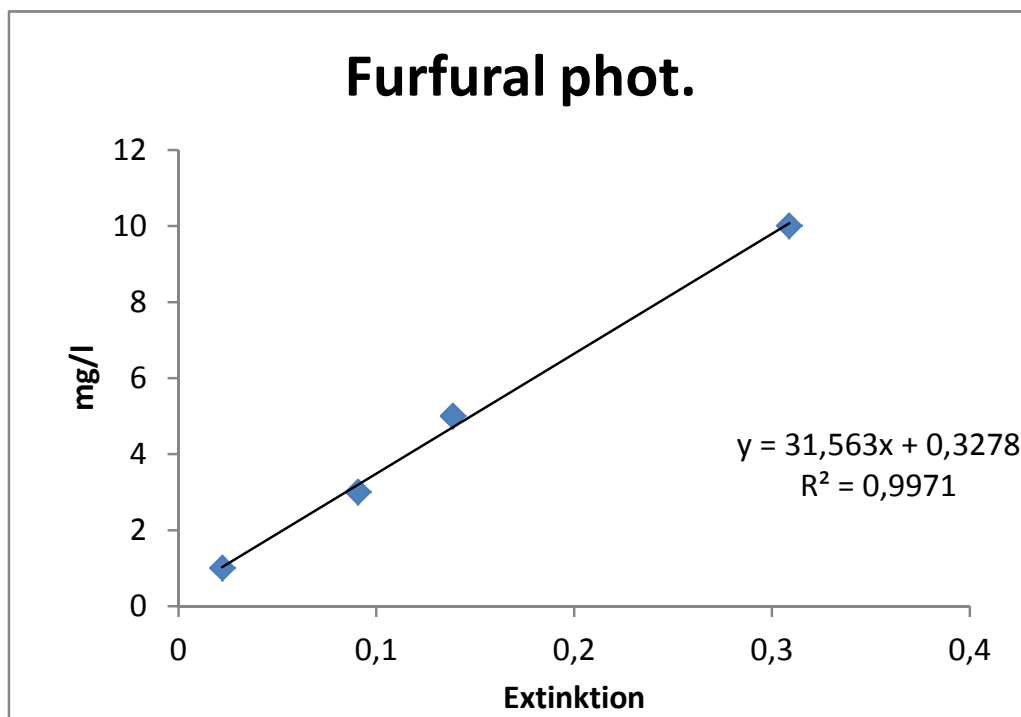


Abb. 2: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol nach 30 min Reaktionszeit

Essigsäure eluiert knapp vor Furfural und weist zudem auf Grund der hohen Polarität ein beträchtliches Tailing auf, das die einwandfreie Quantifizierung von Furfural erschwert. Eine wesentliche Verbesserung dieses Problems konnte nur durch die hier applizierte Probenvorbereitung erreicht werden. Durch die Anhebung des pH-Wertes nach Zugabe von di-Kaliumhydrogenphosphat bleibt der größte Teil der Essigsäure im Zuge der Probenvorbereitung als Acetat in der wässrigen Phase und tritt nur wenig störend in Erscheinung. Da im Zuge einer möglichst einfachen Analytik eine Direktinjektion der destillierten Probe wie bei der Bestimmung von Methyl- und Ethylacetat erwünscht wäre, ist hier der Wechsel auf eine Trennsäule mit unterschiedlicher Beschichtung angezeigt. Prädestiniert wäre hierfür wahrscheinlich eine Phase für die Bestimmung von freien Fettsäuren (FFAP-Phase), bei der die Essigsäure ein deutlich verringertes Tailing aufweist.

ESTER

APFELDESTILLATE

Von den 48 untersuchten Proben wiesen nach der Codex-Methode 44 einen Gesamtestergehalt von weniger als 100 mg/100 ml r.A. auf. Eine Überschreitung des Wertes von 700 mg/100 ml r.A. trat dagegen kein einziges Mal auf. Bei 30 Proben betrug der um Ethylacetat verminderte Gesamtestergehalt weniger als 20 mg/100 ml r.A. Dagegen wiesen alle Proben einen Anteil der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamtestergehalt von mehr als 10 %, 42 Proben sogar einen von mehr als 30 % auf. Unter Berücksichtigung aller drei Kriterien hätten von den 48 Apfeldestillaten lediglich 18 den Anforderungen an österreichischen Qualitätsobstbrand bezüglich Estergehalt genügt.

Erwartungsgemäß waren selbst bei Berücksichtigung

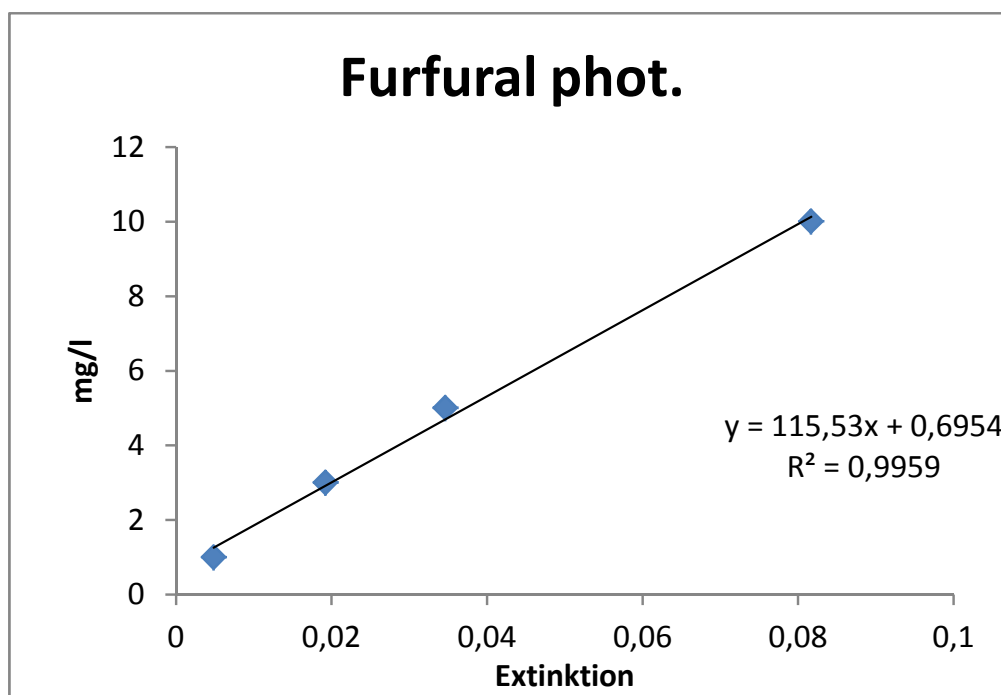


Abb. 3: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol mit 50 mg/l Schwefeldioxid nach 15 min Reaktionszeit

aller quantifizierten Ester die Ergebnisse der gaschromatographischen Bestimmung der Gesamtester verglichen mit der Codex-Methode geringer. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse hätten nur mehr 3 Proben den Kriterien eines Qualitätskernobstbrandes genügt, während bei den übrigen Proben der um den Ethylacetat verminderte Estergehalt unter 20 mg/100 ml r.A. lag. Für die Möglichkeit, einzelne Ester bei dieser Bestimmung nicht zu berücksichtigen, blieben daher nur die Ergebnisse von 3 Proben, wobei die Aussagekraft natürlich gering ist. Bei diesen 3 Proben genügt alleine die Berücksichtigung von Methylacetat, Ethylacetat und Ethyllactat, um den Bestimmungen für Qualitätskernobstbrand bezüglich Esterkennzahlen zu genügen und damit zu den gleichen Ergebnissen wie der nasschemischen Gesamtesterbestimmung zu kommen. Berücksichtigt man nur die Edelbrandproben, so verbleiben nach der nasschemischen Bestimmung der Gesamtester lediglich 7 Proben, die den Anforderungen

des Codex genügen, bei gaschromatographischer Gesamtesterbestimmung keine einzige.

BIRNENDESTILLATE

Das Ester-Spektrum von Birnenbränden weist, verglichen mit den anderen Obstbränden, deutlich mehr Verbindungen in höheren Konzentrationen auf. Vor allem die charakteristischen Methyl- und Ethylester der 2,4-Decadiensäure sind erwähnenswert (POSTEL et al., 1982). Von den 62 untersuchten Proben wiesen nach der Codex-Methode 47 einen Gesamtestergehalt von weniger als 100 mg/100 ml r.A. auf. Eine Überschreitung des Wertes von 700 mg/100 ml r.A. war auch hier bei keiner Probe feststellbar. Nur bei 8 Proben betrug der um Ethylacetat verminderte Gesamtestergehalt weniger als 20 mg/100 ml r.A. Diese im Vergleich zu den Apfelproben deutlich geringere Zahl ist vor allem auf die in Birnendestillaten in vergleichsweise hoher Konzentration

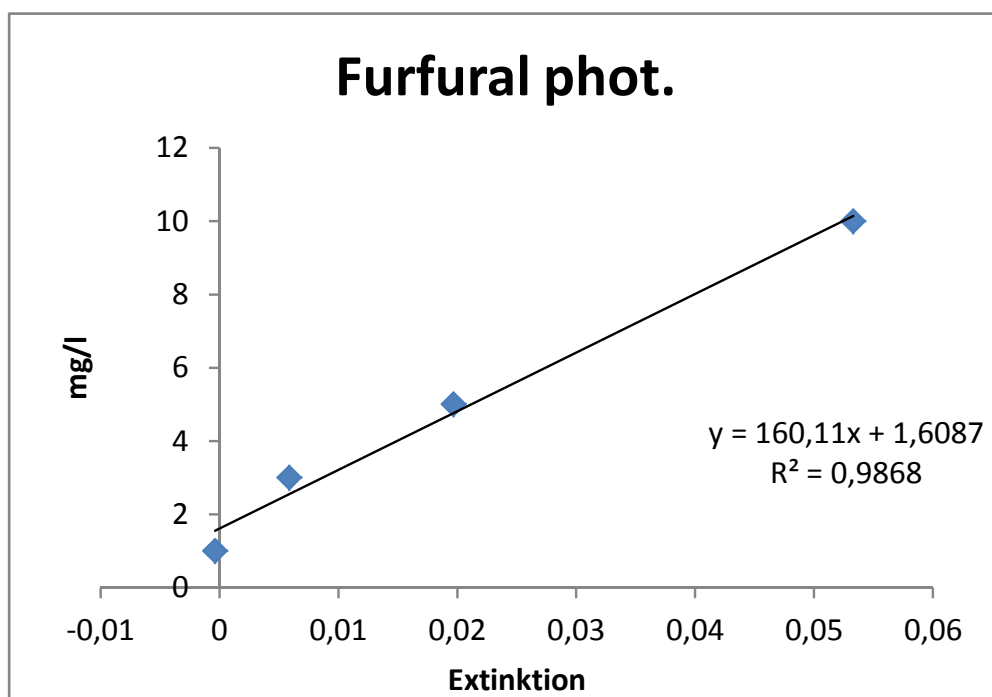


Abb. 4: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol mit 100 mg/l Schwefeldioxid nach 15 min Reaktionszeit

vorhandenen Methyl- und Ethylester der 2,4-Decadiensäure zurückzuführen. Bei 60 Proben betrug der Anteil der um Ethylacetat verminderte Estergehalt am Gesamttergehalt mehr als 10 %, bei 54 Proben mehr als 30 %. Unter Berücksichtigung aller drei Kriterien hätten von den 62 Birnendestillaten 54 den Anforderungen bezüglich Estergehalt an österreichischen Qualitätsobstbrand genügt. Wie bei den Apfelfestillaten verringerte sich auch hier die Zahl der positiv zu beurteilenden Birnendestillaten bei Verwendung der gaschromatographisch bestimmten Estermenge. Bei 7 Proben sank dadurch der um Ethylacetat verminderte Estergehalt auf unter 20 mg/100 ml r.A. und bei einer Probe der prozentuelle Anteil der um Ethylacetat verminderten Ester an den Gesamtestern auf unter 10. Bei 46 Proben war daher die rechnerische Möglichkeit gegeben, einzelne Ester nicht zu berücksichtigen. Legt man als Gesamtter

die Summe von Methylacetat, Ethylacetat, Butylacetat, Ethyllactat, Octansäureethylester, Decansäureethylester, trans-2-cis-4-Decadiensäuremethyl- und -ethylester und trans-2-trans-4-Decadiensäuremethyl- und -ethylester fest, fällt bei lediglich 4 von den 46 Proben der um Ethylacetat verminderte Gehalt an Gesamtestern auf unter 20 mg/100 ml r.A.

Berücksichtigt man nur die Edelbrandproben, so verbleiben nach der nasschemischen Bestimmung der Gesamtter 22 Proben, die den Anforderungen des Codex genügen, bei gaschromatographischer Gesamtterbestimmung noch 20 Proben. Bei Berücksichtigung der oben genannten Ester anstelle der Gesamtter wird lediglich bei einer Probe der Grenzwert für die um Ethylacetat verminderten Gesamtter knapp unterschritten, während die übrigen 19 Proben noch immer positiv zu beurteilen wären.

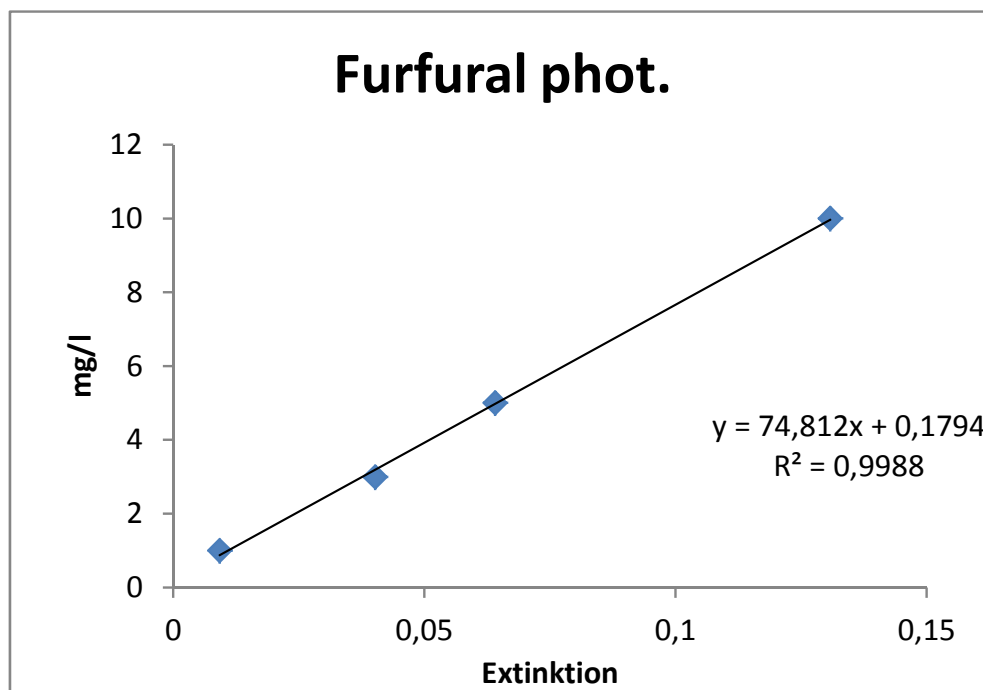


Abb. 5: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol mit 1 mg/l Kupferionen nach 15 min Reaktionszeit

MARILLENDESTILLATE

Von den 42 untersuchten Proben wiesen nach der Codexmethode 34 einen Gesamttergehalt von weniger als 125mg/100 ml r.A. auf. Eine Überschreitung des Wertes von 700 mg/100 ml r.A. war auch hier bei keiner Probe feststellbar. Bei 31 Proben betrug der um Ethylacetat verminderte Gesamttergehalt weniger als 30 mg/100 ml r.A. Eine Unterschreitung des prozentuellen Gehaltes von 10 der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamttergehalt war nur bei einer Probe feststellbar. Unter Berücksichtigung der obigen Kriterien verblieben nur 6 Proben, bei denen die Anforderungen an einen österreichischen Qualitätsmarillenbrand erfüllt waren. Berechnung des Gesamttergehaltes aus der Summe der gaschromatographisch bestimmten Ester führte lediglich bei einer weiteren Probe zum Un-

terschreiten des Grenzwertes von 30 mg/100 ml r.A. der um Ethylacetat verminderten Gesamtter. Für die verbleibenden 5 Proben genügt bereits die Berücksichtigung von Methylacetat, Ethylacetat und Ethyllactat für die gleiche Beurteilung wie bei der nasschemischen Gesamtterbestimmung als Beurteilungsgrundlage. Berücksichtigt man nur die Edelbrandproben, so entsprach schon nach der nasschemischen Bestimmung der Gesamtter keine einzige Probe den Anforderungen des Codex.

ZWETSCHKENDESTILLATE

Von den 45 untersuchten Proben wiesen nach der Codexmethode 38 einen Gesamttergehalt von weni-

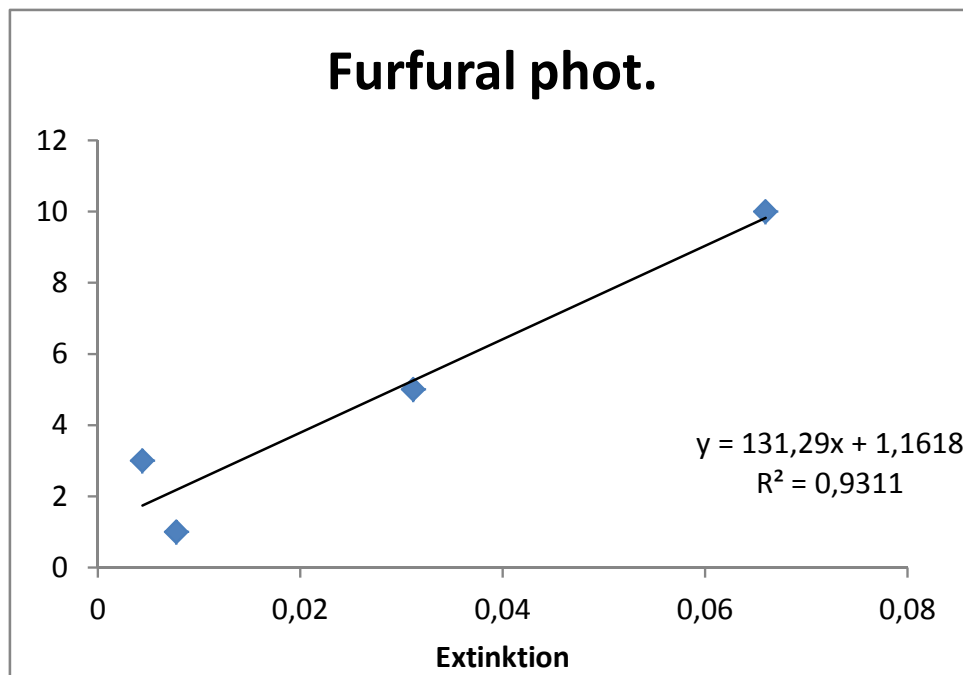


Abb. 6: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol mit 3 mg/l Kupferionen nach 15 min Reaktionszeit

ger als 125 mg/100 ml r.A. auf. Eine Überschreitung des Wertes von 700 mg/100 ml r.A. war auch hier bei keiner Probe feststellbar. Bei 35 Proben betrug der um Ethylacetat verminderte Gesamtestergehalt weniger als 30 mg/100 ml r.A. Eine Unterschreitung des prozentuellen Gehaltes von 10 der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamtestergehalt war nur bei zwei Proben feststellbar. Unter Berücksichtigung der obigen Kriterien verblieben nur 2 Proben, bei denen die Anforderungen an einen österreichischen Qualitätszwetschkenbrand erfüllt waren. Berechnung des Gesamtestergehaltes aus der Summe der gaschromatographisch bestimmten Ester führte bei einer weiteren Probe zum Unterschreiten des Grenzwertes von 30 mg/100 ml r.A. der um Ethylacetat verminderten Gesamtester. Bei der verbleibenden Probe wurde der Grenzwert von 30 mg/100 ml r.A. der um Ethylacetat verminderten Gesamtester selbst bei Berücksichtigung aller gaschromatographisch quantifizierten Ester mit 30,8 mg/100 ml r.A. nur so knapp überschritten, dass praktisch kein Spielraum für das

Weglassen einzelner Ester für die Berechnung blieb.

Berücksichtigt man nur die Edelbrandproben, so entsprach schon nach der nasschemischen Bestimmung der Gesamtester keine einzige Probe den Anforderungen des Codex.

KIRSCHENDESTILLATE

Von den 50 untersuchten Proben wiesen nach der Codex-Methode 43 einen Gesamtestergehalt von weniger als 100 mg/100 ml r.A. auf. Eine Überschreitung des Wertes von 700 mg/100 ml r.A. war bei keiner Probe feststellbar. Bei 31 Proben betrug der um Ethylacetat verminderte Gesamtestergehalt weniger als 20 mg/100 ml r.A. Eine Unterschreitung des prozentuellen Gehaltes von 20 der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamtestergehalt war bei keiner Probe feststellbar. Unter Berücksichtigung der obigen Kriterien verblieben nur 7 Proben, bei denen die Anforderungen an einen österreichischen Qualitätskirschenbrand erfüllt

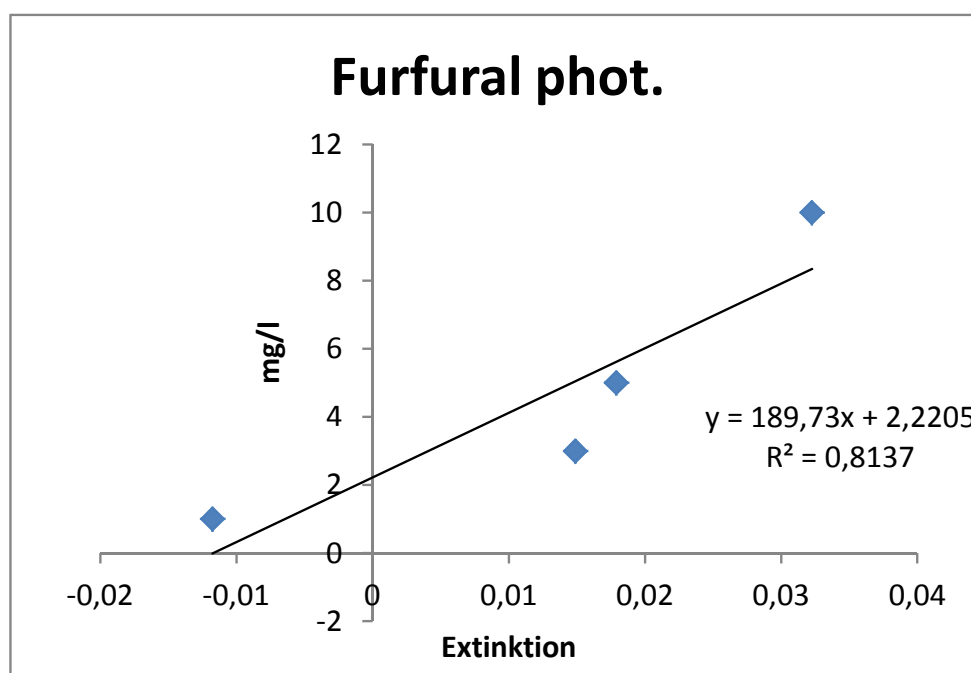


Abb. 7: Kalibrationsgerade der Furfural-Anilin-Reaktion in 40 % Ethanol mit 5 mg/l Kupferionen nach 15 min Reaktionszeit

waren. Berechnung des Gesamtestergehaltes aus der Summe der gaschromatographisch bestimmten Ester führte bei zwei weiteren Proben zum Unterschreiten des Grenzwertes von 20 mg/100 ml r.A. der um Ethylacetat verminderten Gesamttester. Bei den entsprechenden 5 Proben führt die Berücksichtigung von Methylacetat, Ethylacetat und Ethyllactat lediglich bei einer Probe zur Unterschreitung des Grenzwertes von 10 des prozentuellen Gehaltes der um Ethylacetat verminderten Ester am Gesamtestergehalt.

Berücksichtigt man nur die Edelbrandproben, so verbleiben nach der nasschemischen Bestimmung der Gesamttester lediglich 2 Proben, die den Anforderungen des Codex genügen, bei gaschromatographischer Gesamttesterbestimmung nur mehr eine. Für diese eine Probe genügt ebenfalls lediglich die Berücksichtigung von Methylacetat, Ethylacetat und Ethyllactat für eine positive Beurteilung.

FAZIT

Wie die Ergebnisse zeigen, ist bei den hier untersuchten Obstarten durchaus das Potential vorhanden, die qualitative Prüfung auf Furfural durch die gaschromatographische Analyse zu vereinfachen. Neben der vereinfachten Arbeitsweise ist auch die minimierte Störungsanfälligkeit erwähnenswert.

Kritischer ist der Ersatz der nasschemischen Gesamttesterbestimmung durch die gaschromatographische Bestimmung einer Reihe ausgewählter Ester zu beurteilen. Rein formal betrachtet, ist die Fehlerquote selbst bei Quantifizierung relativ vieler Ester bei den Apfeldestillaten vergleichsweise hoch (Tab. 1). Eine nähere Betrachtung des untersuchten Probenmaterials liefert allerdings ein differenzierteres Bild. Wie Tabelle 2 zeigt, waren sowohl der Gesamtestergehalt als auch der um Ethylacetat verminderte Gesamtestergehalt zahlreicher Proben (und hier vor allem bei den Apfeldestillaten) so niedrig,

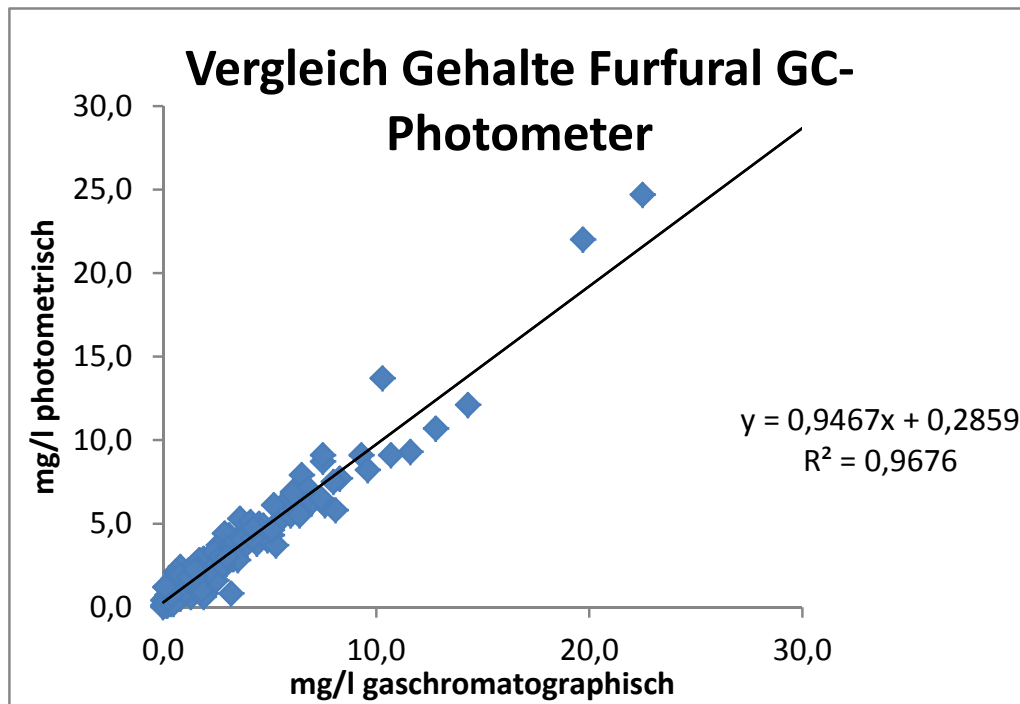


Abb. 8: Regression der gaschromatographisch und photometrisch bestimmten Furfuralgehalte aller Obstbrände

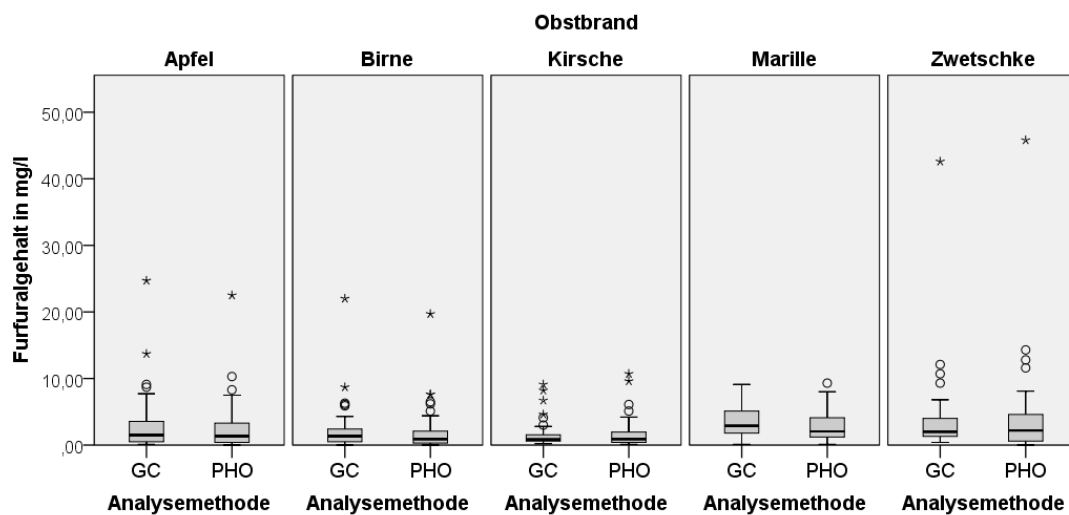


Abb. 9: Vergleich der mit den beiden Methoden bestimmten Furfuralgehalte in den einzelnen Obstbrandarten

PHO = photometrisch, GC = gaschromatographisch

Tab. 1: Ergebnisse der Beurteilung der Estergrenzwerte bei unterschiedlicher Gesamttergrundlage (NC = nasschemische Esterbestimmung, GC1 = Berücksichtigung aller gaschromatographisch bestimmten Ester, GC2 = Berücksichtigung der im Text beschriebenen Ester)

	Apfel	Birne	Marille	Zwetschke	Kirsche
Probenzahl	48	62	42	45	50
entsprechend NC	18	54	6	2	7
entsprechend GC 1	3	46	5	1	5
entsprechend GC 2	3	42	5	0	4
Mindestgehalt lt. Codex	20	20	30	30	20 *

Tab. 2: Mittelwerte der Gesamttergehalte und der um Ethylacetat verminderten Gesamtter in mg/100 ml r.A. der untersuchten Proben

	Apfel	Birne	Marille	Zwetschke	Kirsche
Probenzahl	48	62	42	45	50
Mittelwert Gesamtter	50,381132	86,9722303	94,7754975	79,5244856	60,7703833
Grenzwerte lt. Codex	100-700 *	100-700 *	125-700	125-700	100-700
Mittelwert Gesamtter -Ethylacetat	20,7596705	34,8272272	25,1405614	25,5510802	21,6897945
Mindestgehalt lt. Codex	20	20	30	30	20 *

*Eine Unterschreitung des Grenzwertes ist unter bestimmten Voraussetzungen erlaubt.

dass es außer bei den Birnendestillaten bei sehr vielen Proben schon bei nasschemischer Gesamtterbestimmung zu einer Unterschreitung einer oder mehrerer der im Codex festgelegten Esterkennzahlen kam. Selbst bei den nach nasschemischer Gesamtterbestimmung positiv zu beurteilenden Proben wurde vor allem der Grenzwert der um Ethylacetat verminderten Gesamtter oft nur sehr knapp überschritten. Da methodisch bedingt die Gaschromatographie immer geringere Gesamttergehalte erbringt, führt das Weglassen einzelner Ester bei der Berechnung gerade bei Proben, die nur wenig über den entsprechenden Mindestgehalten liegen, in vergleichsweise vielen Fällen zur Unterschreitung des entsprechenden Grenzwertes. Bei den Proben, die nach der gaschromatographischen Gesamtterbestimmung den Codex-Grenzwerten genügten, war bei den meisten anderen Obstarten durch die Berücksichtigung relativ weniger Ester anstelle aller Ester eine relativ gute Übereinstimmung der Beurteilung zu erreichen. Lediglich das, quantitativ betrachtet, deutlich komplexere Esterspektrum der Birnendestillate zwingt zur Berücksichtigung von mehr Estern bei den Berechnungen.

Wie schon bei den Furfuralergebnissen ausgeführt, stellt sich auch bei den Ergebnissen der Gesamtterbestimmung die Frage, ob die im Codex festgelegten Grenzwerte bezüglich der Estergehalte überhaupt noch Aktualität besitzen. Selbst wenn man nur die als Edelbrand deklarierten Proben (für die streng genommen diese Grenzwerte gelten) berücksichtigt, so wären bei nasschemischer Bestimmung des Gesamttergehaltes von den 17 Apfel-, 26 Birnen-, 12 Marillen-, 19 Zwetschken- und 22 Kirschenqualitätsobstbränden lediglich 7 Apfel-, 22 Birnen- und 2 Kirschenproben als entsprechend zu beurteilen gewesen. Bei den Marillen- und Zwetschkendestillaten hätte keine einzige Probe entsprochen. Interessant wäre die Frage, ob diese geringen Estergehalte auf Veränderungen in der Destillatgewinnung, wie etwa die Destillation unter vermindertem Druck, zurückzuführen sind.

In diesem Fall ist anzunehmen, dass auch andere Kennzahlen in unterschiedlichem Ausmaß eine Tendenz zu höheren oder niedrigeren Werten zeigen.

LITERATUR

- BARDI, L., CRIVELLI, C. AND MARZONA, M. 1998: Esterase activity and release of ethylesters of medium-chain fatty acids by *Saccharomyces cerevisiae* during anaerobic growth, *Can.J. Microbiol.* 44:1171-1176.
- BARDI, L., COCITO, C. AND MARZONA, M. 1999: *Saccharomyces cerevisiae* cell fatty acid composition and release during fermentation without aeration and in absence of exogenous lipids, *International Journal of Food Microbiology* 47: 133-140.
- BATTAGLIA, R. 1986: Analytik und Beurteilung von Williamsbirnenbranntwein mit Hilfe chemometrischer Methoden. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 77: 14-22.
- BRANDES, W., KARNER, M. UND EDER, R. 2003: Bestimmung von sortentypischen Aromastoffen in „Williams Christ“-Bränden und deren Destillationsverhalten *Mitt.Klbg.* 53: 103-112.
- FOLEY, W.M., SANFORD, G. E. A AND MCKENNIS H. 1952: The Mechanism of the Reaction of Aniline with Furfural in the Presence of Acid. *J.Am.Chem.Soc* 74: 5489- 5491.
- FREITAG, D. 2006: Buttersäure-eine Zumutung für die Nase. *Kleinbrennerei* 6: 8-9.
- JENNINGS, W.G., CREVELING, R.K. AND HEINZ, D.E. 1964: Volatile Esters of Bartlett Pear. IV. Esters of Trans:2-cis:4-decadienoic. Acid, *Journal Food Science* 29: 730-734.
- LAFON-LAFOURCADE, S., GENEIX, C. AND RIBERAU-GAYON, P. 1984: Inhibition of Alcoholic Fermentation of Grape Must by Fatty Acids Produced by Yeasts and their Elimination by Yeast Ghosts. *Applied and Environmental Microbiology* Vol.47 6: 1246- 1249.
- POSTEL, W. UND ADAM, L. 1982: Gaschromatographische Charakterisierung und Beurteilung von Spirituosen Teil 1. *Alkohol-Industrie* 13: 287-289.
- SPONHOLZ, W.R., DITTRICH, H.H., HAAS, F. UND WÜNSCH, B. 1981: Die Bildung von flüchtigen Fettsäuren durch *Saccharomyces*-Hefen während der Vergärung vom Traubenmost. *Z.Lebensm.Unters.Forsch.*, 173: 297-300.
- TORIJA, M.J., BELTRAN, G., NOVO, M., POBLET, M, GULLAMON, J.M., MAS, A. AND ROZES, N. 2003: Effect of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *International Journal of Food Microbiology* 85: 127-136.

Eingelangt am 18. Dezember 2017