

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène  
**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit  
**Band:** 84 (1993)  
**Heft:** 3

**Artikel:** Übersicht und Anwendung der HPLC-Analytik von Säuren und Zucker in Wein = Survey and application of HPLC analysis of acids and sugars in wine  
**Autor:** Kaufmann, A.  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982139>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 26.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Übersicht und Anwendung der HPLC-Analytik von Säuren und Zucker in Wein

Survey and Application of HPLC Analysis of Acids and Sugars in Wine

A. Kaufmann  
Schuler-Weine, Seewen SZ

### Einleitung

In der Weinanalytik werden Zucker und Säuren mehrheitlich nasschemisch resp. enzymatisch bestimmt. Trotz der vielen publizierten Arbeiten hat die HPLC oder GC erst sehr begrenzten Zugang zur Weinanalytik gefunden. Neben der notwendigen Instrumentierung haben aber auch weitere Faktoren den Einzug der Instrumentalanalytik verhindert: Die Mehrzahl der publizierten Methoden eignen sich wohl für Forschungslaboratorien, versagen aber in der routinemässigen Lebensmittelkontrolle oder der Betriebsanalytik. Einige der beobachteten Problempunkte: kurze Lebensdauer der analytischen Säulen, Interferenzen durch andere Weinhaltstoffe, Reproduzierbarkeitsprobleme, schlechte Wiederfindungen und umfangreiche Probenaufarbeitung. Das Fehlen von routinetauglichen Analyse- und Screeningmethoden dürfte aber auch ein wesentlicher Grund für das Auftreten und die Verbreitung von Weinskandalen sein. Mit dieser Arbeit soll eine HPLC-Methode vorgestellt werden, welche bei uns während 3 Jahren erfolgreich eingesetzt wurde. Zudem soll ein grober Überblick über die verschiedenen chromatographischen Methoden zur Weinanalytik gegeben werden.

### Methodenübersicht

#### *HPLC-Umkehrphase ohne Derivatisierung (Säuren)*

Aufgrund der Popularität von Umkehrphasen wie C-18 gab es verschiedene Versuche, Carbonsäuren damit zu trennen (1–3). Dabei wird die mobile Phase mit einer starken Säure angesäuert, um die Dissoziation der Analyten zurückzudrängen. Mit der Zugabe von Tetrabutylammoniumphosphat (2) wurde versucht, die

Retentionszeit der Säuren zu verlängern. Trotzdem sind die Analyten noch zu polar und nützen deshalb den Arbeitsbereich einer C-18-Säule nur sehr unvollständig aus. So ist z. B. ein Polaritätsgradient nicht realisierbar. Die Qualität des C-18-Materials hat einen grossen Einfluss auf die Trennleistung. So wurde in unserem Laboratorium beobachtet, dass nach einigen Einspritzungen Tricarbonsäuren wie Citronensäure kontinuierliche Retentionszeitverkürzungen zeigten. Wird mittels UV detektiert, so können phenolische Komponenten oder Aminosäuren interferieren. Ein Stufengradient nach Abschluss der Analyse zwecks Säulenreinigung ist notwendig.

### *HPLC-Umkehrphase mit Derivatisierung (Säuren)*

Die Derivatisierung von Carbonsäuren soll die Detektierbarkeit verbessern sowie die Polarität erniedrigen, um damit die Trennleistung von Umkehrphasen besser ausnutzen zu können (4–6). Aufgrund der meist umfangreichen Probenaufarbeitung und ungenügenden Wiederfindung (besonders Di- und Tricarbonsäuren) konnten sich solche Methoden nicht durchsetzen. Wird der Arbeitsschritt der Derivatisierung eingesetzt, so dürfte die nachfolgende Analyse auf einem Kapillar-GC, aufgrund der höheren Trennleistung, aussagekräftiger sein.

### *HPLC-Ionenausschluss (Säuren)*

#### *Säulen*

Im Gegensatz zur Ionenaustauschchromatographie trennen Ionenausschluss-säulen Mono-, Di-, und Tricarbonsäuren isokratisch auf. Die kommerziell erhältlichen Ionenausschlussäulen arbeiten mittels mehreren Mechanismen (Ionenausschluss, Grössenausschluss und Umkehrphasen-Mechanismus) (7). Deshalb werden sowohl Säuren als auch Zucker getrennt. Diese Säulen sind in verschiedenen ionischen Formen erhältlich. Am verbreitetsten sind die Säulen der Hydrogenform. Säulen mit anderen ionischen Formen wie Calcium, Blei usw. eignen sich für spezifische Trennprobleme, wie z. B. Oligosaccharide und Zuckeralkohole. Diese Säulen sind aber betreffend Trennleistung der Hydrogenform meist deutlich unterlegen. Alle Säulentypen arbeiten mit wässrigen mobilen Phasen. Aufgrund der einfachen mobilen Phase können die verschiedensten Detektionstechniken verwendet werden. Viele Autoren versuchten, die Trennbedingungen zu optimieren, um die wichtigsten Weininhaltsstoffe interferenzfrei zu bestimmen (8–10). Es muss aber festgehalten werden, dass die Selektivität von Ionenausschlussäulen nur sehr geringfügig durch die Analysenparameter beeinflusst werden kann. Eine hohe Säulentemperatur ist für brauchbare Zuckerpeaks notwendig (Erhöhung der Mutarotationsgeschwindigkeit von Zuckern). Die Veränderung der Säurekonzentration bringt nur geringe Retentionszeitveränderungen. Bei Einsatz von Säulen der Hydrogenform kann die Säurekonzentration nicht beliebig reduziert werden. Aufgrund der dadurch fehlenden Dissoziationsunterdrückung der Säureanalyten

neigen diese dann zum Peak tailing. Zugaben von Acetonitril oder Cyclodextrinen wurden in der Literatur (11) beschrieben, konnten sich aber nicht durchsetzen.

## *Detektion*

### *a) RI-Detektion*

Die am meisten angewendete Detektionstechnik ist der Refraktionsindex (RI). Hier werden starke Interferenzen von Zucker mit den Säuren beobachtet. Geringe Konzentrationen an Glucose, Fructose, Citronen- und Apfelsäure sind oft nicht mehr quantifizierbar. Der RI-Detektor spricht aber im Gegensatz zum UV-Detektor nicht auf phenolische Komponenten an. Im Gegensatz zu älteren Geräten sind moderne RI-Detektoren heute durchaus routinetauglich.

### *b) UV-Detektion*

Bei Wellenlängen um 215 nm lassen sich Carbonsäuren detektieren. Phenole interferieren, nicht aber Zucker. Meistens ist die Entfernung von Phenolen vor der Analyse notwendig (12). Eine kombinierte UV-/RI-Detektion liefert deutlich mehr Informationen. Interferenzen lassen sich aber auch so noch nicht vollständig eliminieren.

### *c) Elektrische Leitfähigkeit*

Die elektrische Leitfähigkeit ist sehr spezifisch für Anionen. Sie eignet sich gut für die stark dissoziierten Säuren. Säuren mit hohen pK-Werten wie Essig- und Milchsäure produzieren aber nur sehr schwache Signale. Da bei der Hydrosäule verdünnte Säure als Eluent verwendet wird, resultiert eine hohe Grundleitfähigkeit. Möglich ist der Einsatz von Hexansulfonsäure und einem Membransuppressor (13).

## *Probenauftrennung*

Trotz selektiver Detektion treten immer noch gewisse Peaküberlappungen auf. Verschiedene Autoren (14, 15) trennen deshalb den Wein vor der Analyse in eine neutrale und eine saure Fraktion auf. Die Trennung beruht auf der Anwendung eines Anionenaustauschers. Die von uns getesteten Arbeitsvorschriften zeigten unbefriedigende Resultate. Oft brachen schwache Säuren bei der Ionenaustauscherbehandlung bereits mit der neutralen Fraktion durch. Bei der Verwendung von stark basischen Harzen in Hydroxidform wurden alle Säuren zurückgehalten. Daneben wurde aber eine unbefriedigende Wiederfindung von Glucose und Fructose beobachtet. Der verbleibende Anteil dieser Zucker wurde zusammen mit der sauren Phase eluiert. Eine von uns entwickelte Methodik, siehe unten, verwendet ein spezielles Harz, welches diese Problematik nicht zeigt. Zur Erreichung einer besseren Auftrennung der Analyten wurden auch zwei Säulen hintereinander geschaltet (16–18). Praktisch alle Autoren, die mittels UV detektieren, entfernen vor der Analyse die phenolischen Weinkomponenten. Die ältere Methodik der



Aktivkohlebehandlung ist nicht zu empfehlen. Dabei geht gewöhnlich auch immer Analyt verloren. Die Behandlung mit C-18-Festphasenextraktionsröhrchen hingegen zeigte keine messbaren Verluste an Analyt.

### *HPLC-Ionenchromatographie (Anionen)*

Obwohl die Idee nahe liegt, die Ionenchromatographie zur Analyse von Weinanionen heranzuziehen, eignet sie sich dazu nur bedingt. Gewisse Säuren wie Essigsäure und Milchsäure sowie Apfelsäure und Weinsäure lassen sich mit den meisten Säulen nicht befriedigend trennen. Weit gewichtiger ist aber die Tatsache, dass keine isokratisch betriebene Ionenaustauschsäule Mono-, Di- und Tricarbonsäuren in einem Lauf trennen kann (19). Das Aufkommen der Gradientenionenchromatographie (20, 21) ermöglicht die Auftrennung aller wichtigen Weinanionen. Die verwendete Detektion, elektrische Leitfähigkeit, ist sehr selektiv und wird von Nichtanionen nicht gestört. Meist wird Natronlauge als Eluent verwendet. Zwischen Säule und Detektor muss die Natronlauge mittels eines Membransuppressors aus dem Eluent entfernt werden. Die heutige Säulengeneration löst aber folgende Probleme noch nicht: Retentionszeitreproduzierbarkeit, nichtlineare Kalibrationskurven, Systempeaks. Die heute erhältlichen Hochleistungssäulen sind niederkapazitiv. Der dynamische Bereich ist deshalb beschränkt. Zudem ist eine deutliche Abhängigkeit der Retentionszeit von der Konzentration des entsprechenden Analyten zu beobachten. Die Kalibration kann deshalb nicht automatisiert werden. Zudem erschwert die faktische Monopolstellung eines Säulenherstellers die Verbreitung von Gradientenionenchromatographiemethoden sowie deren Aufnahme als offizielle Testmethode. Trotz dieser Probleme dürfte aber die Ionenchromatographie mit verbesserter Säulentechnologie in Zukunft an Bedeutung gewinnen.

### *Kapillarelektrophorese (Anionen)*

Die Kapillarelektrophorese wurde schon seit längerer Zeit für die Weinanalytik vorgeschlagen (22, 23). Seit kurzer Zeit sind nun auch Geräte kommerziell erhältlich. Diese Methodik zeichnet sich durch die sehr hohe Trennleistung und kurze Analysenzeit aus. Problematisch ist aber die Detektion. Aufgrund des Fehlens von chromophoren Gruppen werden Carbonsäuren mittels indirekter UV-Absorption gemessen. Eine sehr unbefriedigende Basislinie ist deshalb bei dieser Detektionstechnik zu beobachten. Zurzeit ist der limitierte dynamische Bereich ein ungelöstes Problem. Alle wichtigen Weinanionen eluieren innerhalb eines Analysenlaufes. Aufgrund der Konzentrationsunterschiede der Analyten und des limitierten dynamischen Bereiches sind aber zwei Einspritzungen mit unterschiedlichen Probenmengen notwendig.

### *GC (Säuren)*

Die meisten Carbonsäuren im Wein sind nicht GC-gängig. Mittels vorgängiger Derivatisierung lassen sich aber praktisch alle wichtigen Weinanionen (24–27) mittels GC analysieren. Die kapillarchromatographische Trennung liefert sehr viele Informationen und dürfte die Methode der Wahl für Screeningzwecke sein. Wie bei den Kohlenhydraten wird die Silylierung und Acetylierung am häufigsten eingesetzt. Im Gegensatz zur Zuckeranalytik (Mutarotationskinetik) entstehen keine Mehrfachpeaks. Ungelöst ist aber die mangelnde Ausbeute bei Tricarbonsäuren.

### *Normalphasen-LC (Zucker)*

Die Bestimmung von Zuckern mit  $\text{NH}_2$  modifizierten Silikat-Säulen wird seit längerer Zeit praktiziert (15, 28). RI und neuerdings gepulste Amperometrie wird dabei zur Detektion eingesetzt. Die mobile Phase besteht aus etwa 75% Acetonitril. Neben der begrenzten Trennleistung stellt die Säulenalterung ein noch nicht gänzlich gelöstes Problem dar. Die  $\text{NH}_2$ -Gruppen der Säule reagieren mit Probenbestandteilen (Aldehyden und Ketonen) zu Schiffschen Basen. Die basischen  $\text{NH}_2$ -Gruppen verursachen zudem eine «Autohydrolyse» des Silicagelträgers. Mit neueren  $\text{NH}_2$ -Säulen auf Polymerbasis konnte dieses Problem gelöst werden. Ansätze, Acetonitril durch weniger toxische Lösungsmittel zu ersetzen, existieren, konnten sich bisher aber nicht durchsetzen. Von vielversprechenden Versuchen mit Säulen auf der Basis von immobilisierten Cyclodextrinen wurde berichtet (29).

### *Ionenchromatographie (Zucker)*

Bei hohen pH-Werten dissoziieren Zucker und lassen sich somit mittels Ionenaustauschchromatographie bestimmen (30). Beim Einsatz von Gradientenionenchromatographie lassen sich Mono- und Oligosaccharide bestimmen. Aufgrund der notwendigen Empfindlichkeit wird die elektrochemische Detektion der RI vorgezogen. Um ein Faulen der Elektrode zu verhindern, wird die Technik der pulsierenden Amperometrie (PAD) eingesetzt.

### *Ionenausschluss (Zucker)*

Aufgrund der Einfachheit werden Zucker sehr oft mittels Ionenausschluss bestimmt (8–10, 14). Die Eigenschaft dieser Säulen, sowohl Zucker als auch Säuren zu trennen, ist sowohl Vor- als auch Nachteil. Aufgrund der hohen Beladbarkeit kann RI zur Detektion eingesetzt werden. Zucker, Glycerin und Alkohol lassen sich mit einem Lauf bestimmen. Aufgrund des hohen dynamischen Bereiches können sowohl die geringen Zuckermengen als auch die hohen Alkoholkonzentrationen im Wein quantifiziert werden. Die ionische Form der Säule beeinflusst



die Selektivität der Trennung deutlich. Je nach Trennproblem soll deshalb die entsprechende Säule gewählt werden. Neben der RI-Detektion werden auch UV- und gepulste Amperometrie eingesetzt. Die Amperometrie ist der UV-Detektion an Empfindlichkeit und Selektivität deutlich überlegen. Bei der Verwendung von Borsäure als Eluent kann auch mittels elektrischer Leitfähigkeit detektiert werden (31).

### *GC mit Derivatisierung (Zucker)*

Verschiedene Derivatisierungstechniken ermöglichen eine kapillargaschromatographische Zuckeranalytik (25, 27, 32–34). Am verbreitetsten ist die Silylierung und Acetylierung. Einige Zucker eluieren aber nicht als einheitliche Peaks. Aufgrund der Mutarotation bilden sich aus einem Zucker mehrere Derivate die auf der Säule aufgetrennt werden. Verschiedene Techniken (33, 34), wie eine vorgängige Oxymierung oder Mercaptylisierung, verhindern teilweise oder gänzlich diesen unerwünschten Effekt.

### *Schlussfolgerungen*

Mit der Erhältlichkeit von neuen Säulenmaterialien ist die Attraktivität der C-18 Analytik für Carbonsäuren stark gesunken. Die Ionenausschlussäulen haben sich etabliert und aufgrund der einfachen Betriebsbedingungen eine zunehmende Verbreitung gefunden. Die ungenügende Trennleistung für den Wein stellt aber nach wie vor ein Problem dar. Die Ionenchromatographie und evtl. die Kapillarelektrophorese dürften in Zukunft an Bedeutung gewinnen. Eine neue Säulentechnologie ist aber notwendig, um reelle Proben unter Routinebedingungen messen zu können. Die populäre Normalphasenchromatographie von Zuckern dürfte zusehends an Bedeutung verlieren. Die Ionenausschlusschromatographie setzt sich in diesem Bereich immer mehr durch. Ein grosses Potential dürfte die Gradientenionenchromatographie mit gepulster amperometrischer Detektion haben. Derivatisierungstechniken, sowohl für Zucker als auch Säuren, eignen sich nur sehr beschränkt für den Routinebetrieb. Sie sind aber die Methoden der Wahl für die Verifizierung von Peakidentitäten bzw. Strukturaufklärungen von unbekannten Peaks.

## **Arbeitsvorschrift**

### *Prinzip*

Die verwendete Ionenausschlussäule trennt sowohl neutrale als auch saure Komponenten. Aus diesem Grund wird der Wein zuerst mit einem Ionenaustauscher quantitativ aufgetrennt. Die resultierenden zwei Fraktionen (neutral und

sauer) werden getrennt, aber mit der gleichen stationären/mobilen Phase analysiert. Bei korrekter Arbeitsweise fällt die Trennleistung der Säule erst nach 2000–3000 Einspritzungen ab.

### *Instrumentierung*

- HPLC-Isokratisch (Hewlett-Packard-1090)
- Säulenheizung
- Brechungsindex-Detektor (Hewlett-Packard-1047A)
- UV-Detektor (Dioden Array Detector)
- Zweikanaldatenstation
- Festphasenextraktionsgerät (z. B. Adsorbex SPU Merck)
- Sample Processor Visi-1 (Supelco Nr.: 05-7080)

### *Chemikalien*

- Natriumcarbonat 0,5 M
- Schwefelsäure 1 M
- Schwefelsäure 0,01 M
- Ionenaustauscher: Bio-Rex 5, 100–200 Mesh (Bio-Rad-Nr.: 140-7841)
- Methanol

### *Säulen, Verbrauchsmaterial*

- Ionenausschlussäule HPX-87H 300\*7,8 mm (Bio-Rad-Nr.: 125-0140)
- Vorsäule Micro-Guard H (Bio-Rad-Nr.: 125-0129)
- Festphasenextraktionsröhrchen 200 mg C-18 3 ml (Chromabond, MN; Nr.: 730 002)
- Einwegspritzen 5 ml (Macherey-Nagel-Nr.: 718005)
- HPLC-Disk-Probenfilter 0,45 µm (Spartan Müller Krempel, Nr.: 07.463.050)
- leere Einwegextraktionsröhrchen 8 ml (ICT-Nr.: AI 600820)
- HPLC-Probenfläschchen mit Bördelkappen

### *Konditionierung des Ionenaustauschers*

- Füllen der leeren Extraktionssäule mit 1,5 g Ionenaustauscher.
- Gefüllte Säulchen auf Absaugvorrichtung.
- 4,5 ml Natriumcarbonat (0,5 M) in das Säulchen dispensieren und mit einem Glasstab umrühren.
- Mittels Vakuum absaugen und Lösung verwerfen.
- 2mal mit je 4,5 ml Natriumcarbonat (0,5 M) Röhrchen spülen und Lösung verwerfen.
- 2mal mit je 4,5 ml dest. Wasser spülen und Lösung verwerfen.



- 4,5 ml dest. Wasser zugeben, mit Glasstab umrühren und Lösung verwerfen.
- 2mal mit je 4,5 ml dest. Wasser spülen.
- Röhrchen mittels Vakuum kurz leersaugen und einen 10-ml-Messkolben unter die Ausflusskapillare des Röhrchens stellen.

### *Auftrennung der beiden Fraktionen*

#### *a) Neutrale Fraktion*

- genau 1 ml Wein in ein konditioniertes Röhrchen dispensieren, absaugen in Messkolben.
- 2mal mit je 4,0 ml dest. Wasser spülen und in Messkolben absaugen.
- Messkolben aus dem Festphasenextraktionsgerät entfernen und mit dest. Wasser zur Marke auffüllen.
- Die resultierende Lösung wird mittels einer Einwegspritze (nach einmaligem Spülen) durch einen 0,45- $\mu$ m-Filter in ein Probenfläschchen abgefüllt. Der Filter kann für sechs Weine mit je zwei Doppelproben verwendet werden.
- Diese Probe kann nun analysiert werden.

#### *b) Saure Fraktion*

- Einen 10-ml-Messkolben unter die Ausflusskapillare des Röhrchens stellen.
- 3 ml Schwefelsäure (1 M) ins Röhrchen geben und in den Messkolben absaugen.
- 3 ml Schwefelsäure (1 M) ins Röhrchen geben und mit Glasstab umrühren, anschl. in den Messkolben absaugen.
- 3 ml Schwefelsäure (1 M) ins Röhrchen geben und in den Messkolben absaugen.
- Messkolben entfernen und mit dest. Wasser zur Marke auffüllen.
- C-18-Festphasenextraktionsröhrchen mit 0,5 ml Methanol spülen.
- Röhrchen 2mal mit je 3 ml dest. Wasser spülen.
- Ausfluss des Röhrchens mit 0,45- $\mu$ m-Filter versehen.
- Mit der «sauren Phase-Lösung» das C-18-Röhrchen füllen.
- Mittels Sample Processor (Handpumpe) Lösung durchpumpen.
- Den Pumpvorgang 2mal wiederholen (Filtrat verwerfen) und beim dritten Mal Filtrat in ein HPLC-Fläschchen abfüllen. Ein C-18-Röhrchen kann für die zwei Proben einer Doppelbestimmung verwendet werden, der 0,45- $\mu$ m-Filter kann für 6 Weine mit je 2 Doppelproben verwendet werden.
- Die Probe kann nun analysiert werden.

### *HPLC-Analyse*

#### *HPLC-Parameter*

Säule:	HPX-87 H mit Vorsäule
Eluent:	0,01 M Schwefelsäure in Wasser
Fluss:	0,6 ml/min

Säulentemperatur:	65 °C
Druck:	etwa 65 Bar
Einspritzvolumina:	25 µl
Analysenzeit neutrale Phase:	26 min
Analysenzeit saure Phase:	25 min

Die Verwendung von 0,01 M Schwefelsäure ist notwendig, um reproduzierbare Retentionszeiten und symmetrische Peaks zu erhalten. Die Säule wird zudem kontinuierlich durch die Schwefelsäure regeneriert. Saccharose hydrolysiert unter diesen Trennbedingungen. Eine Hydrolyse dieses Analytes lässt sich aber auch beim Einsatz von Wasser als mobile Phase und einer tieferen Säulentemperatur nicht gänzlich unterdrücken.

### *Detektoren*

Der von uns verwendete RI-Detektor verursachte kaum technische Probleme. Etwa 30 min nach der Inbetriebnahme kann die erste Analyse gefahren werden. Es ist bekannt, dass ältere Geräte wesentlich längere Einlaufzeiten benötigen.

Das von uns verwendete Gerät erlaubt die Spülung der Referenzzelle mit dem Eluenten. Andere Geräte zweigen einen Teil des Eluentenstroms für die kontinuierliche Spülung der Referenzzelle ab. Aufgrund der Möglichkeit von Retentionszeitverschiebungen dürfte das Einkanal- dem Zweikanalgerät überlegen sein. Mittels eines Zeitprogrammes wird die Referenzzelle zwischen Einspritzung und Einspritzpeak gespült und das Signal elektronisch auf Null gesetzt.

RI: Temp. RI-Detektor: 40 °C (neutrale und saure Phase). Die Referenzzelle des RI-Detektors soll zu Beginn jeder Analyse gespült werden. Darauf erfolgt ein Nullabgleich. Vorteilhafterweise wird dies mittels eines Zeitprogrammes automatisch durchgeführt.

UV: 215 nm, Bandbreite 10 nm (saure Phase)  
 193 nm, Bandbreite 4 nm (neutrale Phase, nicht zwingend)  
 250 nm, Bandbreite 10 nm (saure Phase, nicht zwingend)

– Trennsäule und Vorsäule mit mobiler Phase (0,01 M Schwefelsäure) langsam einfahren (bis zur stabilen Basislinie bei 193 nm und RI-Stabilität).

### *Standard*

a) Neutral:	D(+)-Glucose:	0,2 g	Multiplikationsfaktor	F: 1
	D(-)-Fructose:	0,2 g	"	": 1
	Glycerin:	0,4 g	"	": 1
	Diethylenglycol:	0,2 g	"	": 1
	Ethanol:	10 ml	"	": 1

- Auf 100 ml auffüllen. Danach 1:10 verdünnen und filtrieren.
- Stabilität im Kühlschrank: 1 Woche.

b) Sauer:	Citronensäure:	0,10 g	Multiplikationsfaktor	F: 1
	L+Weinsäure:	0,25 g	"	" : 1
	L-Apfelsäure:	0,25 g	"	" : 1
	Bernsteinsäure:	0,40 g	"	" : 1
	Calcium-L-lactat:	0,20 g	"	" : 0,6206
	Natrium-acetat:	0,20 g	"	" : 0,732

- Auf 200 ml auffüllen. Danach 1:5 verdünnen und filtrieren.
- Stabilität im Kühlschrank: 1 Woche
- Je nach HPLC etwa 6 Proben zwischen zwei Standards einspritzen.
- Retentionszeiten: siehe Chromatogramme 1–7.

### Auswertung

Zur optimalen Integration der Chromatogramme ist die Erstellung von Integrationsmakros empfehlenswert.

Substanz	zugehöriges Detektorsignal
Glucose	RI
Fructose	RI
Glycerin	RI
Diethylenglycol	RI
Ethanol	RI
Citronensäure	UV 215 nm
Weinsäure	UV 215 nm
Apfelsäure	RI (in Spezialfällen: UV 215 nm)
Bernsteinsäure	RI
Milchsäure	RI
Essigsäure	RI

### Konzentrationsberechnung

$$C_x = \frac{A_{px} \cdot M_x \cdot F_x \cdot 10}{A_{sx}}$$

Legende:	$M_x$ =	Einwaage der Substanz x
	$F_x$ =	Multiplikationsfaktor der Substanz x
	$A_{sx}$ =	Fläche der Substanz x im Standard
	$A_{px}$ =	Fläche der Substanz x in der Probe
	$C_x$ =	Konzentration der Substanz x im Wein (g/l; Ausnahme: bei Ethanol Vol.-% ) «Ausgedrückt als freie Säure, bzw. als Zucker wasserfrei»



## Diskussion der Analysenmethode

### *Probenvorbereitung*

Das Festphasenextraktionsgerät, Adsorbex-SPU-Merck, wurde von uns zur Probenaufarbeitung eingesetzt. Mittels eines Vakuums wird die Weinprobe bzw. die Spüllösung durch den Ionenaustauscher gesogen. Es zeigte sich, dass 12 Proben parallel aufgearbeitet werden können. Ein Vorteil des verwendeten Gerätes besteht darin, dass durch das Anheben und Drehen des Deckels die Eluate von den Auffanggefäßen in den Ablauf geleitet werden können. Bei der Verwendung eines solchen Gerätes können pro Tag und Person 18 Proben (Doppelbestimmung) aufgearbeitet werden.

Die unten beschriebene Behandlung des Ionenaustauschers hat sich bewährt und sollte entsprechend durchgeführt werden. Es ist möglich, die Konditionierung des Ionenaustauschers nicht in den Extraktionsröhrchen, sondern in einem grossen Chromatographierohr durchzuführen. Die Extraktionsröhrchen würden dann direkt mit dem vorherig konditionierten Tauscher gefüllt werden. Der erwähnte Ionenaustauscher wird von uns seit 3 Jahren eingesetzt. Die Möglichkeit, dass die Selektivität dieses Tauschers chargenabhängig ist, kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Sollten Säuredurchbrüche beobachtet werden, sollte der Tauscher in die Hydroxidform umgewandelt werden. Beim Zurückhalten von Fructose und Glucose könnten Mischformen von Chlorid und Carbonat eingesetzt werden.

Die C-18-Behandlung der sauren Phase ist notwendig, um phenolische Komponenten zu entfernen. Erfahrungsgemäss liefern verschiedene Hersteller sehr unterschiedliche Qualitäten an Festphasenextraktionsröhrchen. Extraktionsröhrchen, welche die saure Fraktion eines Rotweines nicht vollständig entfärben, sollten nicht verwendet werden. Nicht gänzlich entfärbte Proben produzieren Peaks mit Retentionszeiten von mehr als 30 min. Diese Substanzen erscheinen dann im nächsten Chromatogramm.

### *Anwendungsgebiet*

Diese Vorschrift ist für alle Traubenweine inkl. Champagner und Sauternes geeignet. Anpassungen an unterschiedliche Gehalte, z. B. Zucker, sind nicht erforderlich.

### *Bestimmbare Substanzen*

Glucose, Fructose, Glycerin, Diethylenglycol, Ethanol, Citronensäure, Weinsäure, Apfelsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Essigsäure.

Weitere Substanzen sind quantifizier- bzw. qualifizierbar, z. B. Trehalose, Sorbitol, Inositol, Shikimisäure, Ethylenglykol. Unnatürliche Methanolmengen sind ebenfalls bestimmbar. Saccharose ist wegen der Hydrolyse durch die mobile Phase



nicht bestimmbar. Die Methode eignet sich sowohl zur Quantifizierung der wichtigsten Weininhaltsstoffe als auch zur Suche nach möglichen extrakterhöhenden Zusätzen.

### *Wiederfindung Ionenaustauscherbehandlung*

Mittels Standardlösungen wurde die Auftrennleistung des Ionentauschers getestet. Die Konzentrationen der einzelnen Substanzen wurden einem «Durchschnittswein» angepasst. Damit soll abgeklärt werden, ob Verschleppungen der Zucker, Durchbrüche der Säuren bzw. irreversible Adsorption von sauren Komponenten erfolgt (Tabelle 1).

Die Wiederfindung liegt zwischen 98,15 und 100,89%. Die einzige Ausnahme bildet Bernsteinsäure mit 83,75% Wiederfindung. Bei keiner Säure konnte ein «Durchbrechen» in die neutrale Fraktion beobachtet werden. Ebenso wurden keine Verschleppungen von neutralen Komponenten in die saure Fraktion festgestellt. Citronensäure und Essigsäure weisen leicht höhere Standardabweichungen als die restlichen Substanzen auf. Dieses Verhalten ist nicht durch die Ionenaustauschertrennung verursacht. Die niedrige Konzentration dieser beiden Substanzen im verwendeten Standard resultierte in kleinen, schwierig zu integrierenden Peaks.

*Tabelle 1.* Wiederfindung Ionenaustauschbehandlung

Substanz	Neutrale Fraktion		Saure Fraktion	
	Wiederfindung (%)	relative Standardabweichung (%)	Wiederfindung (%)	relative Standardabweichung (%)
Trehalose (3 g/l)	99,28	2,02	—	—
Glucose (3 g/l)	100,98	1,83	—	—
Fructose (3 g/l)	100,55	1,92	—	—
Glycerin (8 g/l)	99,85	0,67	—	—
Diethylenglycol (2 g/l)	99,96	1,08	—	—
Ethanol (10 Vol.-%)	99,96	0,83	—	—
Citronensäure (1 g/l)	—	—	98,58	2,40
Weinsäure (2,5 g/l)	—	—	99,73	1,34
Apfelsäure (2,5 g/l)	—	—	98,15	1,53
Bernsteinsäure (3 g/l)	—	—	83,75	1,86
Milchsäure (1,3 g/l)	—	—	99,11	1,99
Essigsäure (0,8 g/l)	—	—	98,53	2,44

*n* = 20 Proben

### Wiederfindung nach C-18-Behandlung

Ein möglicher Verlust an sauren Analyten aufgrund der C-18-Reinigung wurde geprüft (Tabelle 2).

Wie zu erwarten, interferiert die apolare C-18-Phase nicht mit den polaren Analyten, was sich in den guten Wiederfindungen zeigt.

Tabelle 2. Wiederfindung nach C-18-Behandlung

Substanz	Wiederfindung (%)	relative Standardabweichung (%)
Citronensäure (1 g/l)	100,1	0,99
Weinsäure (2,5 g/l)	100,36	0,58
Apfelsäure (2,5 g/l)	99,84	0,72
Bernsteinsäure (3 g/l)	98,23	0,81
Milchsäure (1,3 g/l)	98,95	1,17
Essigsäure (0,8 g/l)	99,17	2,23

$n = 18$  Proben

### Linearität

Um reelle Proben messen zu können, ist der dynamische Bereich und damit die Linearität des Detektorsignales von grosser Bedeutung (Tabelle 3).

Verglichen mit anderen Trenn- bzw. Detektionsmethoden, zeigt die Ionenausschlusschromatographie mittels RI-Detektion einen sehr grossen dynamischen Bereich. Die grossen Konzentrationsunterschiede an Analyten, wie sie in Wein vorkommen, können damit mittels eines Analysenlaufes gemessen werden.

Tabelle 3. Linearität

Substanz	Minimale Konz.	Maximale Konz.	$r^2$
Trehalose	0,5 g/l	10 g/l	0,999999
Glucose	2 g/l	100 g/l	0,999982
Fructose	2 g/l	100 g/l	0,999992
Glycerin	1,5 g/l	30 g/l	0,999999
Dietglycol	0,5 g/l	10 g/l	0,999845
Ethanol	1 Vol.-%	20 Vol.-%	0,999994

## *Resultatevergleich mit klassischen Methoden*

### *Alkohol*

Verglichen mit der destillativen Alkoholbestimmung ist die Genauigkeit praktisch identisch. Der limitierende Faktor stellt in diesem Fall das Auffüllen der aufgearbeiteten Probe im 10-ml-Messkolben dar.

### *Glycerin*

Die Resultate für Glycerin sind verglichen mit anderen Bestimmungsmethoden deutlich besser. Insbesondere sei hier die enzymatische Methode (Böhringer) erwähnt, welche bei der Matrix Wein unerklärbare Abweichungen zeigt. Eine Bestimmung des Glycerin/Alkohol-Verhältnisses ist bei der Verwendung einer klassischen Glycerin und Alkoholbestimmung nur sehr bedingt zulässig. Im Falle dieser HPLC-Methode werden mögliche Fehler neutralisiert, da Glycerin und Alkohol in einem Analysenlauf bestimmt werden.

### *Zucker*

Verglichen mit der Methode Rebelein liefert die beschriebene Methode stets etwas niedrigere Werte. Dies ist besonders bei geringen Gehalten sehr ausgeprägt. Bei hohen Zuckergehalten stimmen die Resultate von HPLC, Rebelein und Enzymatik gut überein. Da die Methode Rebelein alle reduzierbaren Substanzen als Zucker erfasst, ist dieser Sachverhalt verständlich. Bei geringen Zuckergehalten (0–2 g/l) werden mit dieser HPLC-Methode ebenfalls etwas zu grosse Zuckergehalte gemessen. In diesem Konzentrationsbereich koeluieren mehrere nicht vergärbare Zucker und Zuckeralkohole mit den Peaks von Glucose und Fructose. Die besten Resultate, bei geringen Restzuckergehalten, liefert die Enzymatik.

### *Weinsäure*

Praktisch zusammen mit der Weinsäure eluieren Galacturonsäure und Phosphorsäure. Wird das UV- statt das RI-Signal verwendet, lässt sich die Interferenz durch diese zwei störenden Substanzen reduzieren. Das gemessene Resultat ist aber trotzdem in den meisten Fällen um etwa 5–15% zu hoch. Die Unterschiede fallen besonders ins Auge, wenn mit der Rebelein-Methode verglichen wird. Die dort verwendete Aktivkohle (Entfärben des Weines) adsorbiert eine gewisse Menge an Weinsäure und liefert damit zu tiefe Werte.

### *Restliche Säuren*

Bei hohen Konzentrationen ist die Übereinstimmung zur Enzymatik gut. Bei geringen Mengen, z. B. Apfelsäure und Citronensäure nach dem biologischen Säureabbau, werden zu hohe Werte erhalten. Ähnlich wie beim Zucker überlagern in diesem Konzentrationsbereich andere Säuren die gesuchten Substanzen.



## Chromatogramme

Die Probenaufarbeitung mittels Ionenaustauscher und C-18-Festphasenextraktion reduziert störende Komponenten stark. Es resultieren «saubere», gut integrierbare Chromatogramme. Die Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten ist derjenigen von Umkehrphasentrennungen deutlich überlegen (Abb. 1–5).

### *Möglichkeiten und Grenzen der beschriebenen Methode*

Es sind mehrere Methoden publiziert worden, die ebenfalls mittels Anionenaustauscher die neutralen Komponenten von den sauren Inhaltsstoffen trennen. Bei uns konnten diese Methoden nicht zufriedenstellend reproduziert werden. Bei der

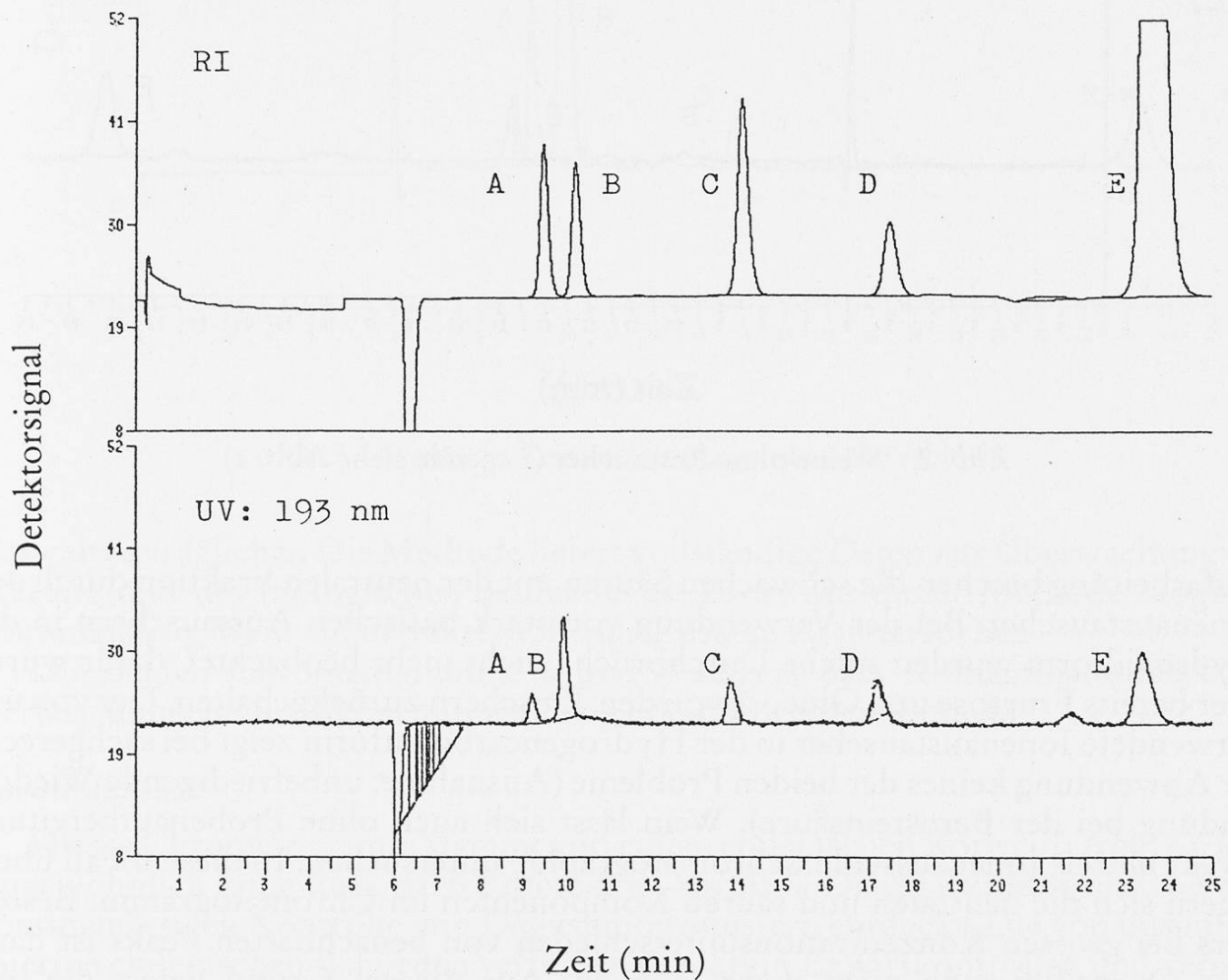


Abb. 1. Standard neutrale Komponenten

Legende: A = Glucose  
B = Fructose  
C = Glycerin  
D = Diethylenglycol  
E = Ethanol



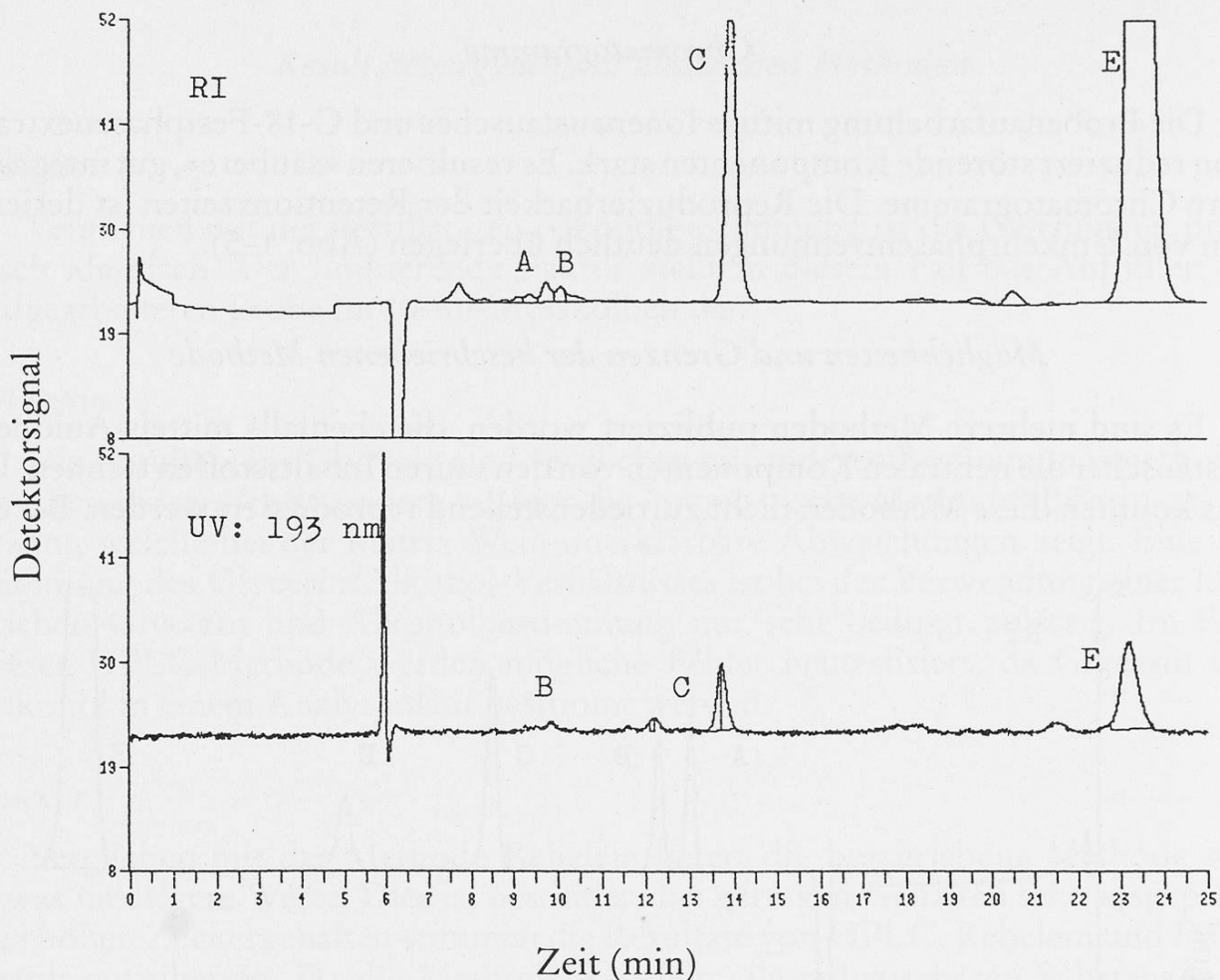


Abb. 2. Weine ohne Restzucker (Legende siehe Abb. 1)

Aufarbeitung brachen die schwachen Säuren mit der neutralen Fraktion durch den Ionenaustauscher. Bei der Verwendung von stark basischen Austauschern in der Hydroxidform wurden solche Durchbrüche nicht mehr beobachtet, dafür wurde aber bereits Fructose und Glucose von den Tauschern zurückgehalten. Der von uns verwendete Ionenaustauscher in der Hydrogencarbonatform zeigt bei sachgerechter Anwendung keines der beiden Probleme (Ausnahme: unbefriedigende Wiederfindung bei der Bernsteinsäure). Wein lässt sich auch ohne Probenaufbereitung direkt mittels Ionenausschlusschromatographie untersuchen. In diesem Fall überlagern sich die neutralen und sauren Komponenten im Chromatogramm. Besonders bei grossen Konzentrationsunterschieden von benachbarten Peaks ist dann eine Quantifizierung nicht mehr möglich. Aus diesem Grund liefert die hier vorgestellte Methode mit der vorhergehenden Auftrennung über einen Ionenaustauscher wesentlich mehr und exaktere Informationen. Zudem ist durch die vorgängige Ionenaustauschertrennung die Unterscheidung zwischen anionischen und neutralen Analyten gegeben. Die Genauigkeit in bezug auf die klassische Analytik oder Enzymatik ist vergleichbar. Der deutliche Vorteil liegt aber bei den signifikanten Arbeits- und Kosteneinsparungen. Aufgrund der wenig toxischen Chemikalien ist die beschriebene Arbeitsvorschrift gegenüber den älteren Methoden deutlich

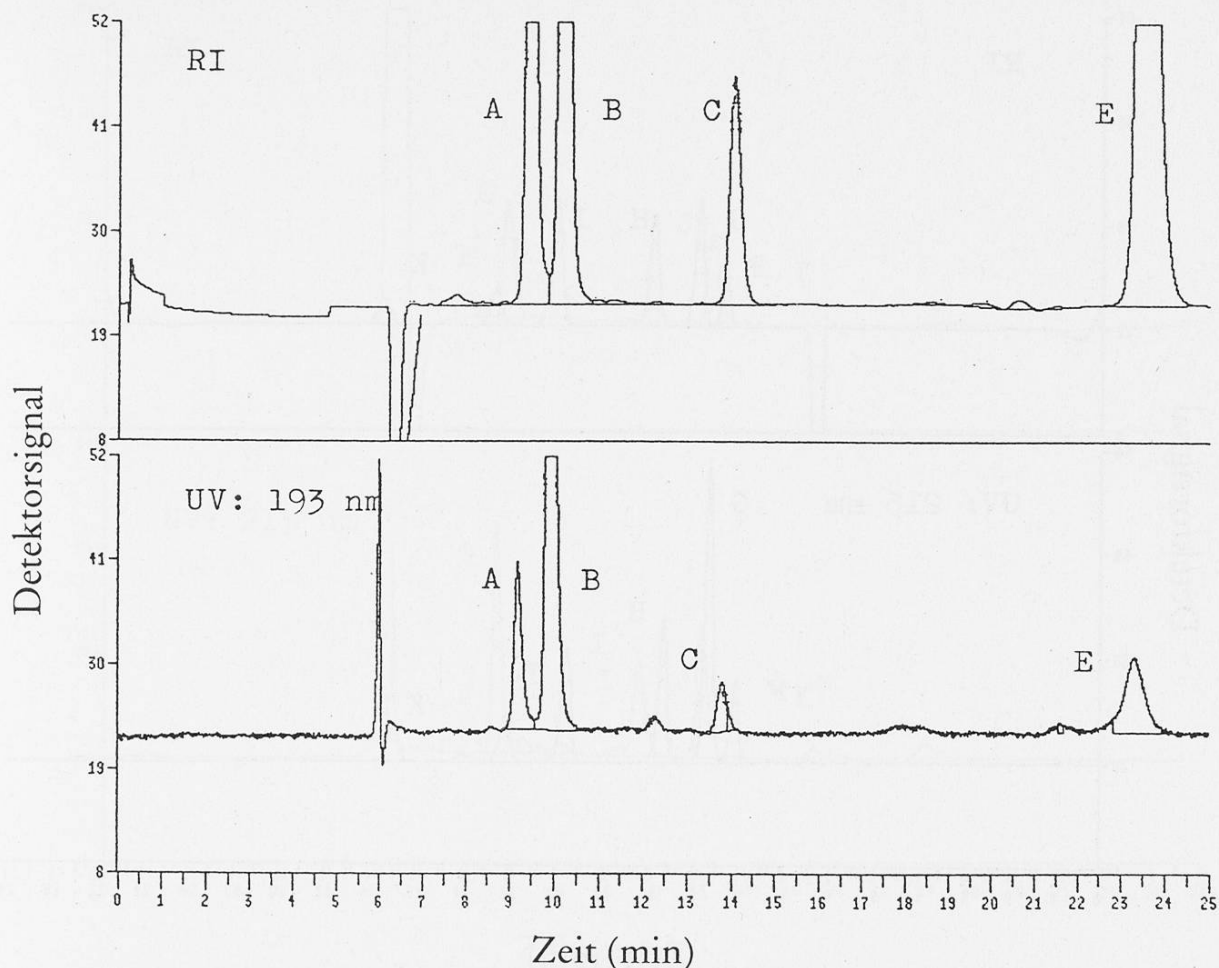


Abb. 3. Wein mit Restzucker (Legende siehe Abb. 1)

umweltverträglicher. Die Methode liefert vollständige Daten zur Überwachung der Gärung und des biologischen Säureabbaus. Es ist mit dieser Methode möglich, routinemässig Wein auf extrakterhöhende Zusätze zu untersuchen.

Die beiden Chromatogramme 6 und 7 zeigen, dass Kontaminationen bzw. Verfälschungen von Wein routinemässig erkannt werden können.

#### *Sorbitolzusatz*

Dieses Chromatogramm stammt von einem chilenischen Rotwein (Abb. 6). Der ungewöhnlich hohe Peak nach Fructose ist Sorbitol. Dieser Zusatz wurde bei der routinemässigen Kontrolle von Degustationsmustern entdeckt. Die von uns informierten chilenischen Behörden verfügten daraufhin Exportkontrollen und verhiinderten so die Ausweitung dieses Weinskandales.

Die Abklärung der Identität des Peaks gelang durch die Verwendung einer Ca-Ionenausschlusssäule sowie durch Silylierung/GC-Trennung.

#### *Ethylenglycol*

Nach unserem Wissen wurde Ethylenglycol, im Gegensatz zu Diethylenglycol, keinem Wein absichtlich zugesetzt. Das Chromatogramm (Abb. 7) enthält 3 g/l

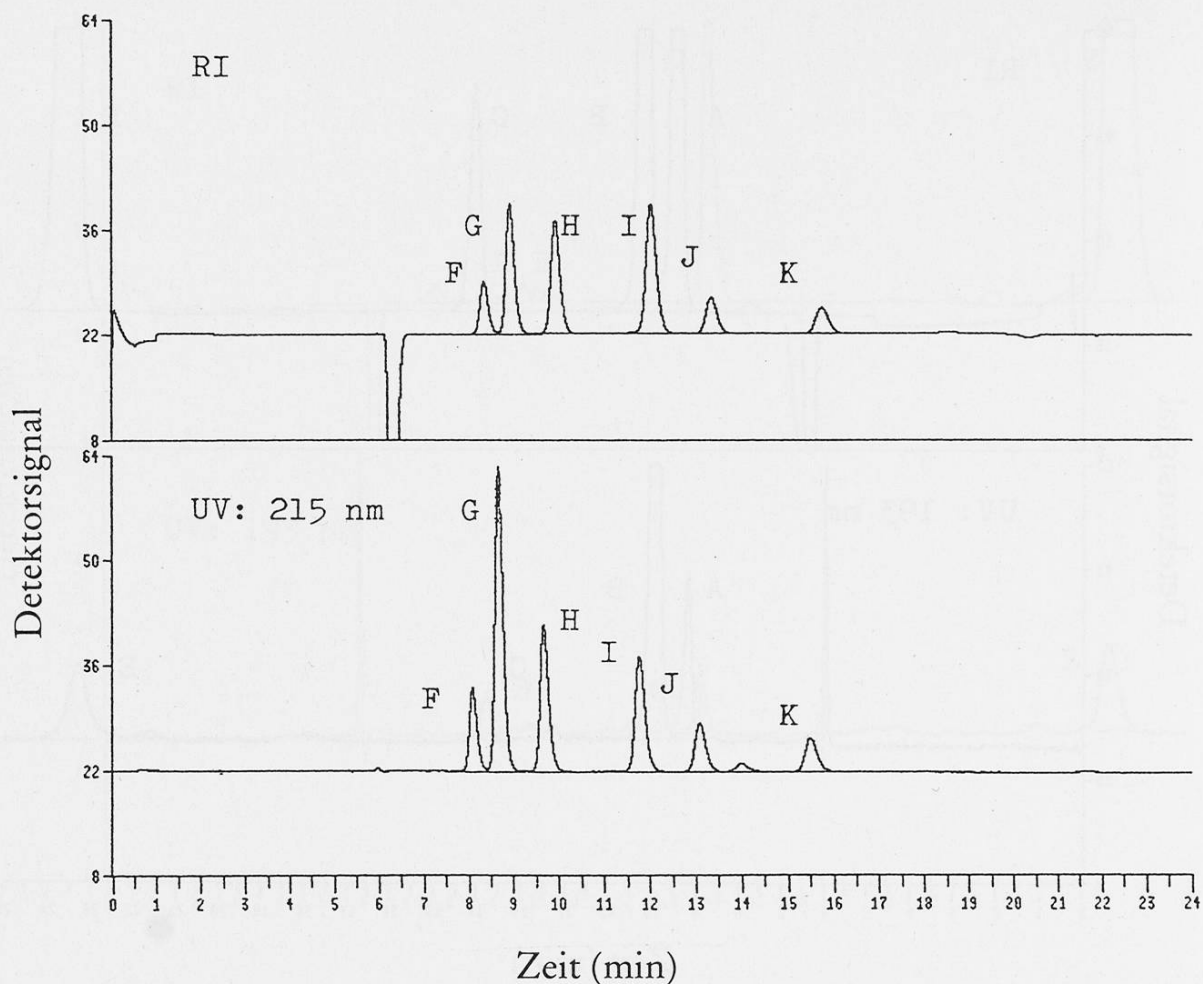


Abb. 4. Standard saure Komponenten

Legende: F = Citronensäure  
 G = Weinsäure  
 H = Apfelsäure  
 I = Bernsteinsäure  
 J = Milchsäure  
 K = Essigsäure

Ethylenglycol. Der ursprüngliche Verdacht eines unerlaubten Zusatzes erwies sich in diesem Fall als unbegründet. Bei einer Inspektion der Kellerei konnte bei einem Wärmeaustauscher ein Riss entdeckt werden. Durch diesen Riss trat ein kontinuierlicher Strom an Kühlflüssigkeit (Ethylenglycol) in den zu kühlenden Wein aus.

Es besteht die Möglichkeit, die Produkteidentität mit der beschriebenen Methode sicherzustellen. Die Erfahrung zeigt aber, dass bei der Lagerung des Weines Veränderungen auftreten, die das Analysenbild verändern.

Das Erkennen der Herkunft resp. Traubensorte ist nur bedingt möglich. So erkennt man z. B. die Traubensorten Cabernet-Sauvignon und Shiraz an relativ grossen Shikimisäuremengen.

Die beschriebene Methode ist bei der Verwendung eines entsprechenden Geräteparks routinetauglich. RI-Detektoren der neueren Generation sind extern

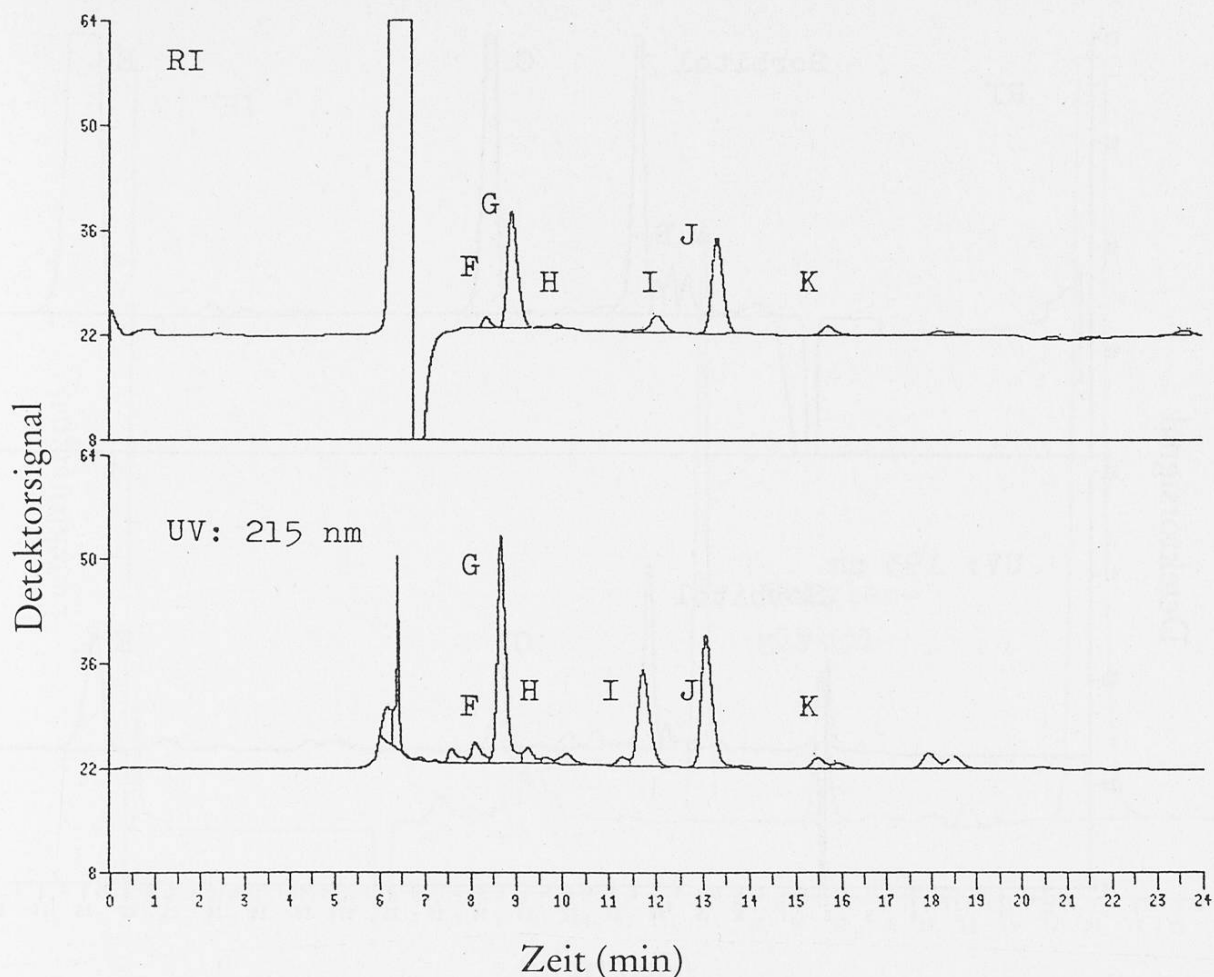


Abb. 5. Wein mit abgeschlossenem Säureabbau (Legende siehe Abb. 4)

ansteuerbar und können für unbeaufsichtigte Analysenserien eingesetzt werden. Bei uns sind gesamthaft über 6000 Proben mit der beschriebenen Methode analysiert worden.

### *Dank*

Herrn K. Schelbert (Schuler Weine) und Herrn St. Heiner (Schuler Weine) für die praktische Durchführung der Methodvalidierung. Herrn Dr. M. Brunner (Kantonales Laboratorium Zürich) für das Austesten der Methodik. Herrn Dr. R. Etter (Kantonales Laboratorium Zürich) für die gute Zusammenarbeit und die Durchsicht des Manuskriptes.

### *Zusammenfassung*

Eine Ionenausschluss-HPLC-Methode für Wein wird beschrieben. Um Interferenzen zwischen Säuren und Kohlenhydraten zu reduzieren, wird der Wein vor der Analyse mittels eines Anionenaustauschers getrennt. Die resultierenden neutralen und sauren Fraktionen werden getrennt auf der gleichen analytischen LC-Säule analysiert. Die Wiederfindungen, die Linearität und die Reproduzierbarkeit werden diskutiert. Diese Methode ist in unserem



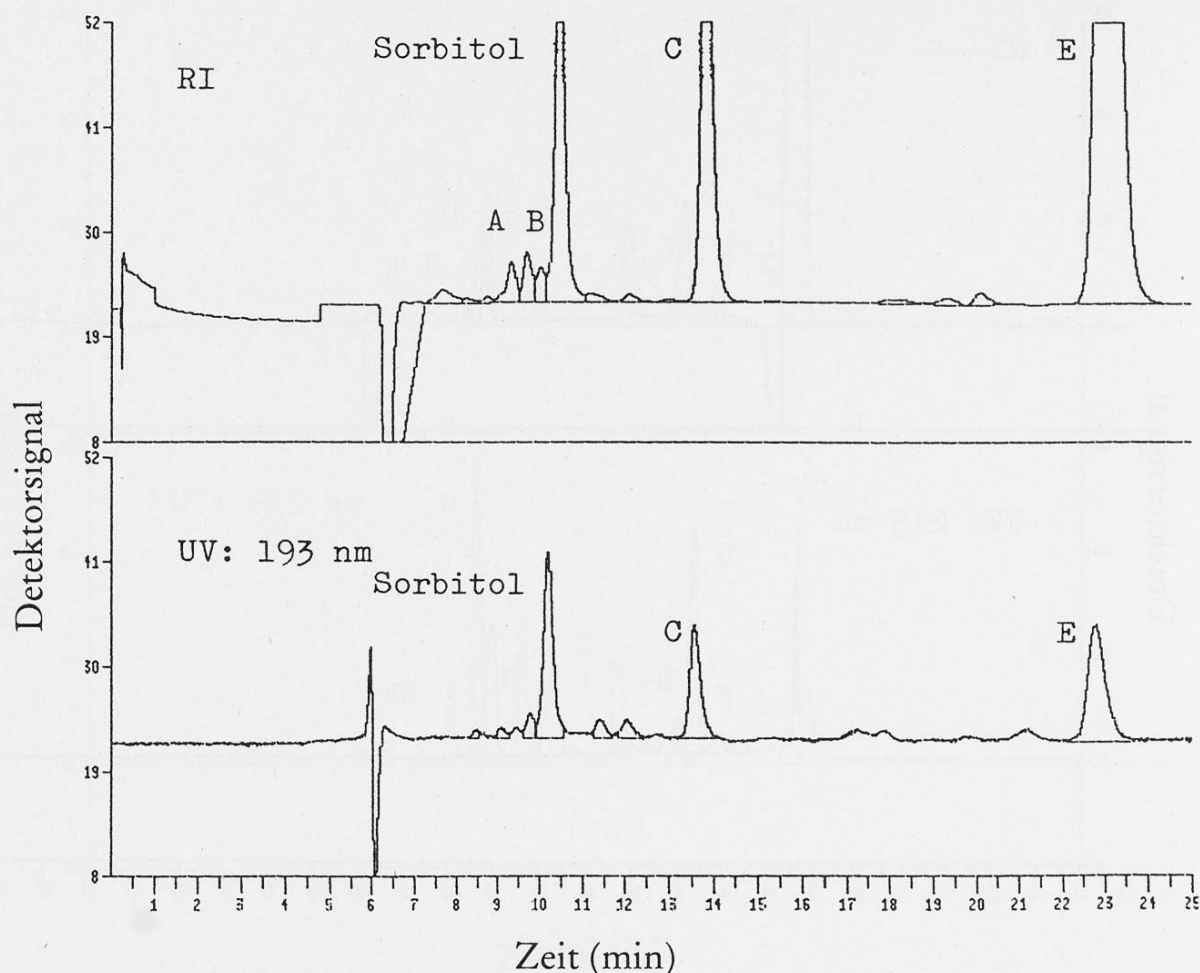


Abb. 6. Wein Neutrale Fraktion mit Sorbitolzusatz (Legende siehe Abb. 1)

Laboratorium für mehrere tausend Weinanalysen verwendet worden. Sie eignet sich sowohl zur Quantifizierung von bekannten Inhaltsstoffen als auch zur Bestimmung von Weinverfälschungen.

### Résumé

Une méthode HPLC d'exclusion d'ions pour le vin est décrite. Pour réduire les interférences entre l'acide et les hydrates de carbone, le vin sera séparé avant l'analyse au moyen d'un échangeur d'ions négatifs. Les fractions acides et neutres, qui en résultent seront séparées sur la même analyse par colonne LC. Les récupérations, la linéarité et la capacité de reproduction sont discutées. Cette méthode a été utilisée dans notre laboratoire pour plusieurs milliers de vins. Elle est bien connue pour les quantifications de substances et même pour la détection des vins frelatés.

### Summary

A ion-exclusion HPLC method for wine analysis is described. In order to reduce interferences between acids and carbohydrates, the wine is separated previous to the analysis

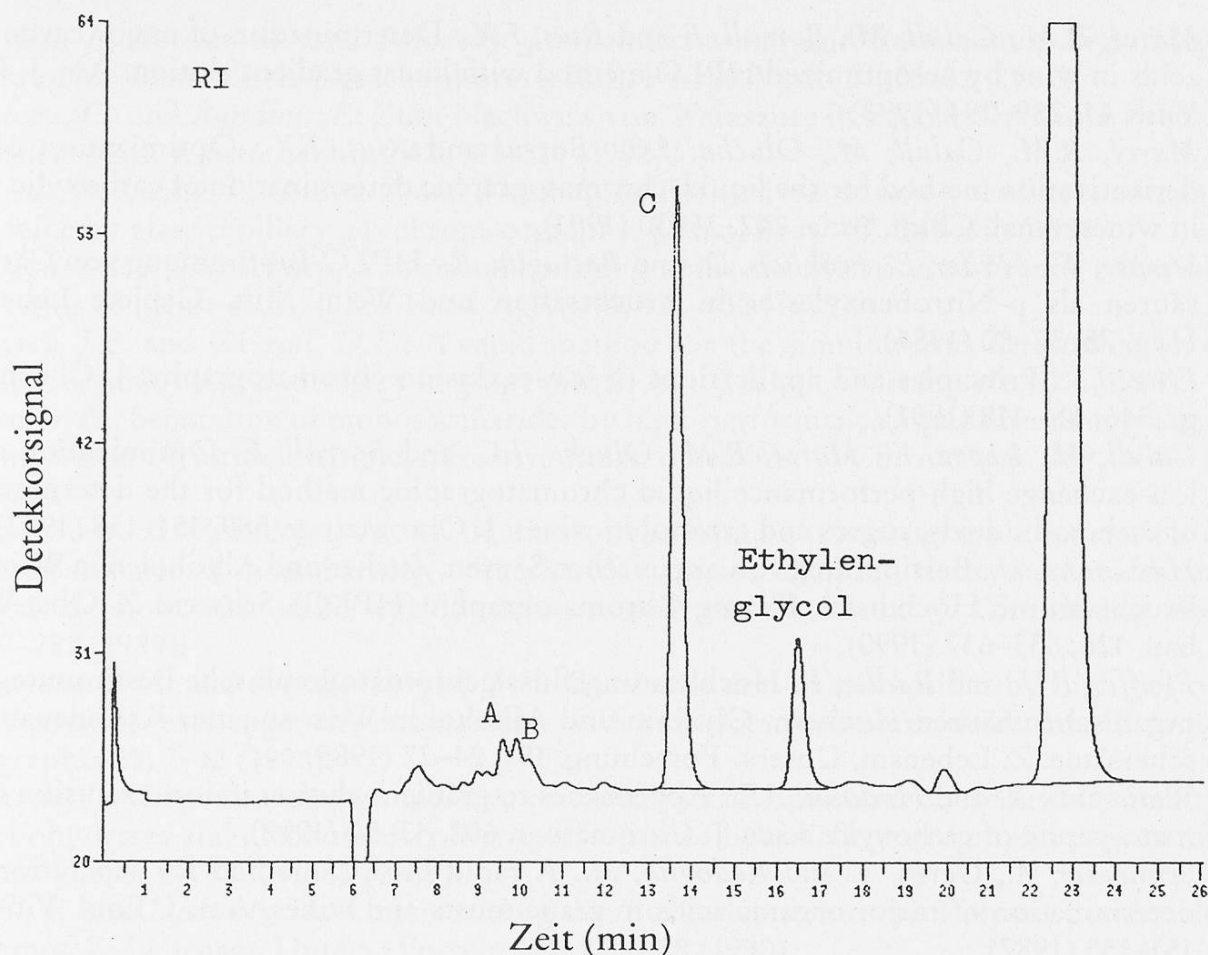


Abb. 7. Wein Neutrale Fraktion mit Ethylenglycolkontamination (Legende siehe Abb. 1)

by an anion exchanger. The resulting neutral and acid fractions are analysed separately on the same analytical LC column. The recovery rates, the linearity and the reproducibility are discussed.

This method has been used in our laboratory for the analysis of several thousands of wines. It is suitable for the quantification of known compounds, as well as for the detection of possible adulterations.

### Literatur

1. Llorente, M., Villarroya, B. and Gomez-Cordoves, C.: Reversedphase HPLC of organic acids in musts. *Chromatographia*. **32**, 555–456 (1991).
2. Droz, C. und Tanner, H.: Über die Trennung und quantitative Bestimmung der organischen Säuren in Fruchtsäften und Weinen mittels HPLC. *Schweiz. Z. Obst-Weinbau*. **15**, 434–438 (1982).
3. Flak, W. und Pluhar, G.: Ergebnisse von Untersuchungen über die quantitative Bestimmung der Säurehauptkomponenten von Traubenweinen unterschiedlicher Herkunft, Sorte und Reife mit einer modifizierten hochdruckflüssigkeitschromatographischen Methode. *Mitt. Klosterneuburg*. **33**, 60–68 (1983).

4. *Marcé, R.M., Calull, M., Borrull, F. and Rius, F.X.*: Determination of major carboxylic acids in wine by an optimized HPLC method with linear gradient elution. *Am. J. Enol. Vitic.* **41**, 289–294 (1990).
5. *Marcé, R.M., Calull, M., Olucha, J.C., Borrull and Rius, F.X.*: Optimization of the derivatization method for the liquid-chromatographic determination of carboxylic acids in wines. *Anal. Chim. Acta.* **242**, 25–30 (1991).
6. *Steiner, W., Müller, E., Fröhlich, D. und Battaglia, R.*: HPLC-Bestimmung von Carbonsäuren als p-Nitrobenzylester in Fruchtsäften und Wein. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **75**, 37–50 (1984).
7. *Fritz, J.S.*: Principles and applications of ion-exclusion chromatography. *J. Chromatogr.* **546**, 111–118 (1991).
8. *Calull, M., Lopez, E., Marcé, R.M., Olucha, J.C. and Borrull, F.*: Optimization of an ion-exchange high-performance liquid chromatographic method for the determination of carboxylic acids, sugars and ethanol in wines. *J. Chromatogr.* **589**, 151–158 (1992).
9. *Hämmann, U.*: Bestimmung von organischen Säuren, Zucker und Alkoholen in Wein und Fruchtsaft mit Hochdruck-Flüssig-Chromatographie (HPLC). *Schweiz. Z. Obst-Weinbau.* **126**, 633–637 (1990).
10. *Pfeiffer, P.U. und Radler, F.*: Hochleistungsflüssigchromatographische Bestimmung von organischen Säuren, Zuckern, Glycerin und Alkohol in Wein an einer Kationenaustauschersäule. *Z. Lebensm. Unters.-Forschung.* **181**, 24–27 (1985).
11. *Widiastuti, R. and Haddad, P.R.*: Approaches to gradient elution in ion-exclusion chromatography of carboxylic acids. *J. Chromatogr.* **602**, 43–50 (1992).
12. *Schneider, A., Gerbi, V. and Redoglia, M.*: A rapid HPLC method for separation and determination of major organic acids in grape musts and wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **38**, 151–155 (1987).
13. *Haginaka, J., Wakai, J. and Yasuda, H.*: Ion-exclusion chromatography of carboxylic acids with conductivity detection. *J. Chromatogr.* **447**, 373–382 (1988).
14. *Calull, M., Marcé, R.M. and Borrull, F.*: Determination of carboxylic acids, sugars, glycerol and ethanol in wine and grape must by ion-exchange high performance chromatography with refractive index detection. *J. Chromatogr.* **590**, 215–222 (1992).
15. *Flak, W.*: Die quantitative Bestimmung von Sacchariden und Zuckeralkoholen in Wein mittels der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). *Mitt. Klosterneuburg* **31**, 204–208 (1981).
16. *Frayne, R.F.*: Direct analysis of the major organic components in grape must and wine using high performance liquid chromatography. *Am. J. Enol. Vitic.* **37**, 281–287 (1986).
17. *Goiffon, J.P., Blanchere, A. and Reminiac, C.*: Dosage des acides organiques du vin par chromatographie en phase liquide. *Analisis.* **13**, 218–225 (1985).
18. *Bonn, G.*: High-performance liquid chromatography of carbohydrates, alcohols and diethylene glycol on ion-exchange resins. *J. Chromatogr.* **350**, 381–387 (1985).
19. *Rocklin, R.D., Slingsby, R.W. and Pohl, C.A.*: Separation and detection of carboxylic acids by ion chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* **9**, 757–775 (1986).
20. *Joergensen, L. and Weimann, A.*: Ion chromatography as a tool for optimization and control of fermentation processes. *J. Chromatogr.* **602**, 179–188 (1992).
21. *Kupina, S.A., Pohl, C.A. and Gannotti, J.L.*: Determination of tartaric, malic, and citric acids in grape juice and wine using gradient ion Chromatography. *Am. J. Enol. Vitic.* **42**, 1–5 (1991).
22. *Drdák, M., Karovicová, J. und Kovács, T.*: Veränderungen organischer Säuren während der Reifung von Rotweinen. *Mitt. Klosterneuburg* **40**, 109–113 (1990).



23. *Farkas, J., Kovács, M. und Polonsky, J.:* Identifizierung und Bestimmung organischer Säuren im Wein mittels Isotachophorese. *Bull. Potrav. Vysk.* **21**, 25–32 (1982).
24. *Wacha, C. und Bandion, F.:* Zum Nachweis von Weinsäure in Fruchtsäften und Fruchtweinen. *Mitt. Klosterneuburg* **42**, 121–124 (1992).
25. *Smedt, P., Liddle, P., Cresto, B. and Bossard, A.:* The analysis of non-volatile constituents of wine by glass capillary gas chromatography. *J. Inst. Brew.* **87**, 349–351 (1981).
26. *Etiévant, P.V. and Schlich, P.:* Varietal and geographic classification of French red wines in terms of major acids. *J. Sci. Food Agric.* **46**, 421–438 (1989).
27. *Marcy, J.E. and Carroll, D.E.:* A rapid method for the simultaneous determination of major organic acids and sugars in grape musts. *Am. J. Enol. Vitic.* **33**, 176–177 (1982).
28. *Binder, H.:* Separation of monosaccharides by high-performance liquid chromatography: comparison of ultraviolet and refractive index detection. *J. Chromatogr.* **189**, 414–420 (1980).
29. *Armstrong, D.W. and Jin, H.:* Evaluation of the liquid chromatographic separation of monosaccharides, disaccharides, trisaccharides, tetrasaccharides, deoxysaccharides and sugar alcohols with stable cyclodextrin bonded phase columns. *J. Chromatogr.* **462**, 219–232 (1989).
30. *Martens, D.A. and Frankenberger, W.T.:* Determination of saccharides by high performance anion-exchanger chromatography with pulsed amperometric detection. *Chromatographia* **29**, 7–12 (1990).
31. *Okada, T.:* Ligand-exchange indirect conductometric detection of electrically neutral carbohydrates and alcohols after high-performance liquid chromatographic separation. *Anal. Chem.* **60**, 1336–1340 (1988).
32. *Will, F. und Dietrich, H.:* Untersuchung der Zuckerbausteine von Polysacchariden des Weines. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **191**, 123–128 (1990).
33. *Englmaier, P.:* Derivatisierung der Carbonylgruppe für die gaschromatographische Kohlenhydratanalyse. *GIT Fachz. Lab.* **33**, 90–96 (1989).
34. *Englmaier, P.:* High resolution-GLC of carbohydrates as their dithioacetal-trimethylsilylates and trifluoroacetates. *JHRC* **13**, 121–125 (1990).

A. Kaufmann  
Schuler-Weine  
CH-6423 Seewen