

H&R HandelsgmbH

Bayernstrasse 12  
A-5411 Oberalm

z.H.: Ing. Herbert Rettenbacher

Kompetenzzentrum Holz GmbH  
St. Peter Straße 25 A-4021 Linz

DI Daniel Stratev  
c/o TU-Wien, Institut für Verfahrenstechnik  
Gumpendorfer Str.1a, 5 Stock, E166/4  
A-1060 Wien  
Tel.: +43 1 58801 166453  
Fax.: +43 1 58801 166980

Wien, 31.05.13

## Untersuchungsbericht Zirbe01: VOC- und Extrakt-Analyse von Zirbenholz

Version 0.80



### Gegenstand der Untersuchungen:

Alpenduft-Späne in der Dose, Zirbenöl;

Identifizierung der aus Zirbenholz emittierbaren und extrahierbaren Substanzen. Qualitative Bestimmung der Zusammensetzung eines Zirbenöls.

### Methoden und Auswertung:

Die aus Zirbenstrands emittierbaren flüchtigen organischen Verbindungen (VOC) wurden mittels SPME-GC/MS qualitativ bestimmt. Die extrahierbaren Substanzen (Extraktstoffe) wurden durch Aceton-Wasser Extraktion, Derivatisierung und GC/MS-Analyse semi-quantitativ bestimmt.

Die Zusammensetzung des Zirbenöls wurde durch direkte GC/MS-Injektion identifiziert.

## **Experimentelles:**

**SPME:** Je 0.5 g Zirbenspäne wurden in drei SPME-Headspace Vials für 24 h bei 23°C gelagert und die emittierten VOC wurden durch SPME-GC/MS analysiert. Die Ergebnisse sind ersichtlich in Tabelle 1.

**Extraktion:** Je 1.0 g Zirbenspäne wurden in drei 10 ml Zellen eines Büchi E-916 Speed Extraktors bei 110°C und 110 bar mit Aceton-Wasser (95/5 - v/v) in vier Zyklen extrahiert. 1,5 ml aus dem Extrakt wurde lyophilisiert, mit TCMS/BSTFA derivatisiert und anschließend mittels GC/MS analysiert. Die Ergebnisse sind ersichtlich in Tabelle 2.

**Zirbenöl-Analyse:** 10 µl Zirbenöl wurden in 3 ml Methanol und 61 µl Toluol-D8-Lösung gelöst und je 1 µl davon wurden zweimal durch GC/MS analysiert. Die Ergebnisse sind ersichtlich in Tabelle 3.

## **Ergebnisse:**

Aroma: Die Zusammensetzung des Aromas des Zirbenholz untersucht durch SPME (Tabelle 1) und die festgestellte Zusammensetzung des Zirbenöls (Tabelle 3) sind qualitativ sehr ähnlich. Die quantitativen Unterschiede beruhen auf den unterschiedlichen Analysemethoden, sowie auf den möglichen chemischen Umwandlungen und unterschiedlichen Substanz-Ausbeuten bei der Gewinnung des Zirbenöls. Auffällig in beiden Untersuchungen sind die hohen Konzentrationen an beta-Phellandren, die als typisch für das Zirbenholz bezeichnet werden können. Das Sesquiterpen Cembren ist in einer viel geringere Konzentration vorhanden. Die anderen nachgewiesenen Terpenoide sind typisch für Nadelhölzer wie z.B. Kiefer oder Fichte.

Es ist zu bemerken, dass die durchgeführte Literaturrecherche keine Angabe über den Geruchsschwellenwert von beta-Phellandren brachte. Es ist aus diesem Grund nicht möglich, abzuschätzen inwieweit diese Substanz zum Gesamtaroma des Zirbenhölzes bzw. Öls beiträgt. Es ist weiters zu berichten, dass frühere Untersuchungen wie [1] nicht in der Lage waren, die Wichtigkeit von beta-Phellandren für die Zirbenholz Aromabildung abzuschätzen, da beta-Phellandren und Limonen chromatographisch schwer trennbar sind. Die Verwendung von MS-Signalfiltern mit m/z 68 und m/z 93 (Abbildung 1) führt dazu, dass die beiden Substanzen unterscheidbar sind und deren Konzentrationsverhältnis grob abzuschätzen ist. Basierend auf den Ergebnissen kann behauptet werden, dass beta-Phellandren eine wichtige Komponente des Zirbenholz-Aromas ist. Für eine quantitative Abschätzung der Rolle von beta-Phellandren bei der Aromabildung sollen weitere olfaktometrische Untersuchungen gemacht werden (nicht im Projektumfang).

Extraktstoffe: Eine Liste der mit Aceton-Wasser (Verhältnis: 95:5) extrahierbaren Substanzen aus Zirben-Hobelspäne ist in Tabelle 2. Zirbenspäne: Extrakt-Analyseersichtlich. Es wurden typische Nadelholz-Extraktstoffe, sowie die zirbenspezifischen [2] Lignane Pinosylvinmonomethylether und Dihydropinosylvinmonomethylether nachgewiesen. Andere spezifische Extraktstoffe sind Pinitol, Cembren und Pinocembrin.



Tabelle 1. Aroma der Zirbenspäne: Ergebnisse aus der SPME Analyse

Substanz	Prozentualen Anteil der Gesamtpeakfläche			
	Mittelwert	Messwert 1	Messwert 2	Messwert 3
alpha-Pinen	22%	23%	21%	23%
beta-Pinen	3%	3%	3%	3%
3-Caren	25%	25%	24%	25%
Limonen	10%	9%	10%	10%
<b>beta-Phellandren</b>	35%	35%	36%	33%
<b>Bornilacetat</b>	5%	5%	5%	5%
<b>Cembren</b>	1%	1%	1%	1%

Tabelle 2. Zirbenspäne: Extrakt-Analyse

Substanz	Menge [mg/g]			
	Mittelwert [%]	Messwert 1	Messwert 2	Messwert 3
Glycerol	1%	0.6	0.7	0.7
Sugar01	1%	0.2	0.3	0.5
Sugar02	2%	0.9	1.5	1.3
Sugar03	4%	1.3	2.2	1.9
Sugar04	0%	0.1	0.2	0.3
Inositol	1%	0.4	0.3	0.3
<b>D-Pinitol</b>	19%	11.3	9.1	9.0
Sugar05	0%	0.1	0.1	0.1
Sugar06	0%	0.2	0.2	0.2
<b>Cembren</b>	1%	0.2	0.3	0.3
Isopinitol	0%	0.3	0.2	0.2
Hexadecanoic acid	1%	0.7	0.7	0.6
<b>Dihydro-monomethylpinosylvin</b>	8%	3.7	4.5	3.6
Linolensäure	5%	2.2	2.7	2.7
Linolsäure	7%	2.9	3.7	3.7
Ölsäure	5%	2.2	2.7	2.7
<b>Pinosylvin mono-methyl-ether</b>	7%	3.7	3.8	3.2
Isopimarinsäure	10%	3.7	5.7	5.5
Palustrinsäure	2%	0.8	1.3	1.3
<b>Unbekannt (Retinolsäure-ähnlich)</b>	11%	4.0	6.3	6.1
Abietinsäure	13%	4.8	7.9	7.8
Neoabietinsäure	2%	0.6	1.0	0.9
<b>Pinocembrin</b>	1%	0.3	0.3	0.3
<b>Summe [mg/g]</b>	<b>51.4</b>	<b>45.1</b>	<b>55.8</b>	<b>53.2</b>

Tabelle 3. Zirbenöl Zusammensetzung

Substanz	Mittelwert	Messung 1	Messung 2
alpha-Pinen	59%	59%	59%
Camphen	4%	3%	4%
beta-Pinen	10%	10%	11%
3-Caren	5%	5%	5%
Limonen	2%	1%	3%
<b>beta-Phellandren</b>	15%	17%	14%
Sesquiterpene	4%	4%	4%
<b>Cembren</b>	1%	1%	1%

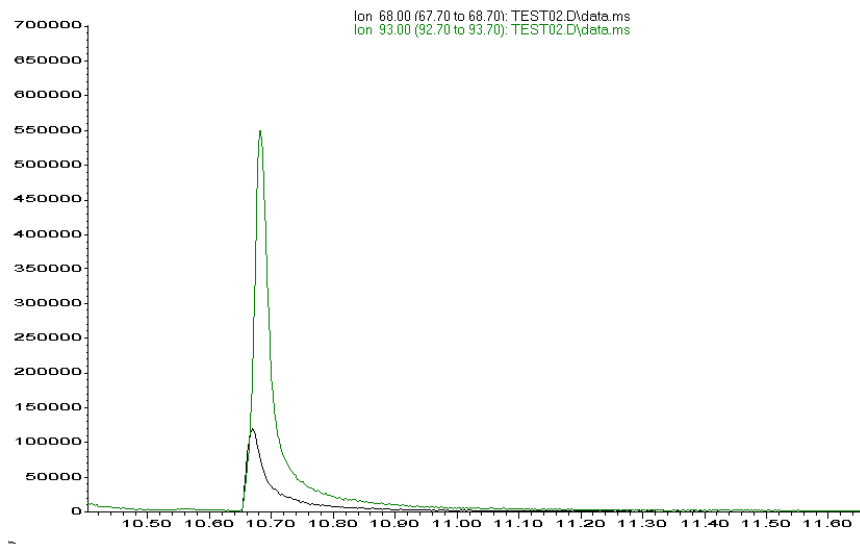


Abbildung 1. Differenzierung zwischen Limonen (schwarz) und beta-Phellandren (grün) durch Verwenden von m/z Signalfiltern.

## Literatur

1. Dormont, L., A. Roques, and C. Malosse, *Cone and foliage volatiles emitted by pinus cembra and some related conifer species*. *Phytochemistry*, 1998. **49**(5): p. 1269-1277.
2. Willför, S.M., et al., *Antioxidant Activity of Knotwood Extractives and Phenolic Compounds of Selected Tree Species*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51**(26): p. 7600-7606.