

DIE CHARAKTERISIERUNG VON AROMASTOFFEN IN ROSÉWEINEN AUS DER BLAUEN WILDBACHERREBE

ZEFFERER Lisa-Maria, Leitner Erich

*Institut für Lebensmittelchemie- und Technologie, Technische Universität Graz,
Petersgasse 12/2, 8010 Graz, Österreich*

lm@sbox.tugraz.at

KEYWORDS: Wein - Blauer Wildbacher - Schilcher - Gaschromatographie - Olfaktometrie

ZUSAMMENFASSUNG

Roséweine aus der Blauen Wildbacherrebe stellen eine regionale Spezialität des weststeirischen Weinbaugebietes dar. Diese Weine werden Schilcher genannt und dürfen nur in der Steiermark diese Bezeichnung tragen. Der Schilcher genießt Sortenschutz. Das bedeutet, dass nur jene Weine als Schilcher deklariert und verkauft werden dürfen, die zu 85 % aus der Blauen Wildbacher-Traube gekeltert und ausschließlich in der Steiermark gewachsen sind. Der Gebietsschutz des Schilchers besteht seit der Weingesetz-Novellierung von 1976 (1). Aufgrund seiner besonderen Charakteristik kann der Schilcher als weltweit einzigartig angesehen werden. Markant hebt sich der Schilcher schon allein durch sein auffälliges Äußeres hervor, welches sich in einer zwiebelfarbig bis rubinroten Färbung präsentiert. Zu seinen Eigenschaften zählen sowohl ein äußerst hoher Säureanteil als auch sein sortentypisches, feinzartes Bouquet. Geruchlich beinhaltet der Schilcher sowohl grasig, grüne Noten wie Brennessel oder Paprika, aber auch fruchtige wie schwarze Ribisel, Stachelbeere oder gar Erdbeere. Dieses außergewöhnliche Bouquet entwickelt der Schilcher nur auf den Gneis- und Schieferurgesteinsböden der Weststeiermark, in sehr guten, warmen Lagen (2). Trotz der regionalen Wichtigkeit sind diese Produkte, die sich sensorisch

signifikant von anderen Weinen unterscheiden, hinsichtlich ihres Aromaprofils nicht charakterisiert. Für die Ausbildung eines Aromas ist Flüchtigkeit eine wichtige Eigenschaft von geruchsbildenden Stoffen. Zu den aromarelevanten Substanzen werden vor allem folgende Substanzklassen gezählt: Säuren, Alkohole, Aldehyde und Ketone, Acetale, Ester, Kohlenwasserstoffe, Schwefelverbindungen, Lactone und andere Sauerstoffheterocyclen, Terpene und deren oxygenierte Derivate, sowie Phenole, Pyrazine und andere Stickstoffheterocyclen (3).

EINLEITUNG

Bei der Klassifizierung der Aromastoffe des Schilchers kamen neben unterschiedlichen Extraktions- und Anreicherungstechniken auch die Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O), sowie die multivariate Datenanalyse zum Einsatz. Die Wichtigkeit der aromarelevanten Verbindungen im Bezug auf das Gesamtaroma wurde aus einer Kombination von „Sniffing-Analyse“ (GC-O) und Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) ermittelt. Bei diesem Verfahren wurden die Flüssig-Flüssig Extrakte und deren Verdünnungen (1:10, 1:100) mittels GC-O von fünf geschulten Personen untersucht und somit eine sogenannte Detection Frequency (4) ermittelt. Zusätzlich zur analytischen Charakterisierung des Roséweines aus der Blauen Wildbacherrebe wurden sowohl UV-Vis-Spektroskopie (5) als auch Messungen mittels Alcolyzer durchgeführt. Während die UV-Vis-Spektroskopie Auskunft über Farbe, Anthocyangehalt sowie das chemische Alter des Weines gibt, werden mittels Alcolyzer Aussagen hinsichtlich des wahren Alkoholgehaltes sowie Daten über den Reifegrad des eingesetzten Traubenmaterials erhalten.

MATERIALIEN UND METHODEN

In Zusammenarbeit mit lokalen Produzenten wurde zur Erstellung des Aromaprofils beziehungsweise zur Charakterisierung der geruchsaktiven Komponenten des Schilchers eine Auswahl von vier Weinen (S1-S4) des Jahrgangs 2006 getroffen. Diese Weine wurden anhand unterschiedlicher Extraktions- und Anreicherungsverfahren analytisch hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung untersucht. So kamen neben der Flüssig-Flüssig Extraktion mit Dichlormethan (CH_2Cl_2), der Festphasenmikroextraktion (Solid Phase

Microextraction = SPME) (6), auch die Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction = SPE) (7) zum Einsatz. Die Datensätze aus diesen analytischen Verfahren wurden in weiterer Folge hinsichtlich etwaiger Unterschiede verglichen und anhand der multivariaten Datenanalyse diskutiert. Gaschromatographische Messungen der Inhaltsstoffe aus den diversen Extraktionstechniken sollen Aufschluss über die Aromakomponenten des Schilcherweines geben.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Um einen direkten Vergleich zwischen unterschiedlichen Extraktions- und Anreicherungsverfahren zu ziehen, wurden die Schilcherweine sowohl mittels Flüssig-Flüssig Extraktion (200 mL Wein mit 40 mL CH_2Cl_2 extrahiert und auf 5 mL eingengt) als auch mittels Solid Phase Microextraction (4 mL Wein und 1 g NaCl in 20 mL Crimpvial) angereichert. Die Bestimmung der flüchtigen Verbindungen erfolgte anschließend durch den Einsatz von Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS, HP-5). Für die Festphasenmikroextraktion wurde als Faser eine Supelco 50/30 μm Divenylbenzen-Carboxen-Polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS) Stable Flex/SS (2cm) verwendet. Zur repräsentativen Auswertung der Datensätze wurde die multivariate Datenanalyse (MasStat® und Unscrambler®) eingesetzt, die es ermöglicht eventuelle Trends bezüglich Vinifikation, Produzent, Anbaugebiet und Aromastoffe zu erkennen. Anhand der multivariaten Datenanalyse der Flüssigextrakte und der SPME-Messung kann man deutlich erkennen, dass diese Analysenverfahren zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Was in weiterer Folge die Annahme bestätigt, dass unterschiedliche Aufarbeitungsmethoden verschiedene Ergebnisse repräsentieren. Somit wird es also unumgänglich bei der Bestimmung von aromarelevanten Verbindungen des Schilchers, sich nicht nur auf eine Extraktionsmethode zu stützen, sondern eine gezielte Auswahl an Analysenmethoden vorzunehmen und die gelieferten Ergebnisse konkret miteinander zu vergleichen. Ist die Aufarbeitung der Weinproben mittels Flüssig-Flüssig Extraktion ein eher langwieriges Verfahren so stellt im Gegenzug dazu die Extraktion mittels SPME eine schnelle und simple Methodik dar. Diese Unterschiede führen somit zu verschiedenen Darstellungen in den Clustern der multivariaten Datenanalyse, die mittels MasStat® durchgeführt wurde.

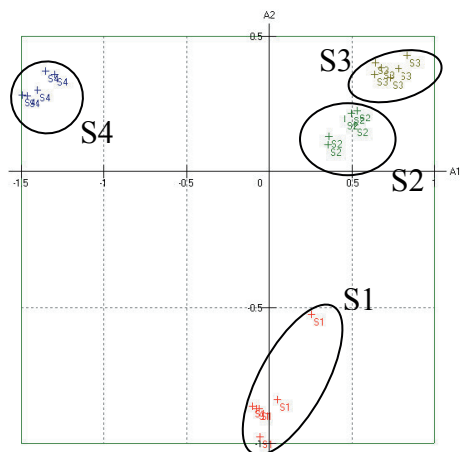


Abb.1: Cluster der Dichlormethanextrakte

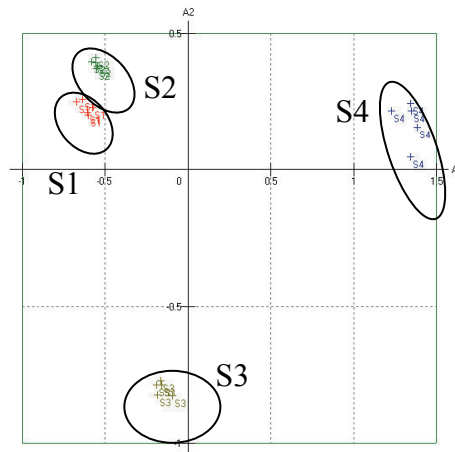


Abb.2: Cluster der mit SPME bestimmten Proben

Der Vorteil bei der Auswertung der Datensätze mittels MasStat® ist, dass die Rohdaten aus den GC-MS Messungen der Flüssig-Flüssig Extrakte und der mittels SPME vermessenen Proben direkt aus dem Datenset importiert werden können. Weiters ermöglicht dieses Programm neben der Darstellung der aufgearbeiteten Proben anhand von Clustern auch noch einen Vergleich der unterschiedlichen Proben anhand einzelner Ionenmassen zueinander.

Tab. 1: Vergleich der Flüssig-Flüssig Extrakte mittels MasStat® anhand ihrer Ionenmassen

Ionen [m/z]	Substanz	Geruch
45	Isoamylacetat	Banane
53	γ -Butyrolacton	Karamel, süß, Kirsche
75	Hexylacetat	fruchtig, herb
101	Diethylsuccinat	Wein, fruchtig
120	Benzenacetaldehyd/Hyazinthin	Honig
151	Ethylvanillat	Vanille, würzig
168	Vanillinsäure	Vanille, würzig

Tab. 2: Vergleich der mit SPME bestimmten Weine mittels MasStat® anhand ihrer Ionenmassen

Ionen [m/z]	Substanz	Geruch
25	Isobutanol	Wein, Lösungsmittel, bitter
45	Isoamylacetat	Banane
45	Isoamylalkohol	rote Frucht
69	Citronellol	Zitrone
71	Hotrienol	Hyazinthe
75	Linalool	blumig, Muskat
75	Hexylacetat	fruchtig, herb
75	Phenylethanol	Rose, Lilie, Honig
99	α -Terpinen	Zitrone
104	Phenyllessigsäure	Honig, blumig
104	Nerolidol	Holz, Wachs, blumig
106	Benzaldehyd	Mandel, Marzipan
192	Vitispiran	grün, Chrysantheme, blumig-fruchtig

In den oben angeführten Tabellen (Tab. 1+2) sind jene Verbindungen aufgelistet, die anhand der ermittelten Ionenmassen zur Unterscheidung der Weine untereinander führen. Hierbei wird ersichtlich, dass Flüchtigkeit und Polarität entscheidende Eigenschaften bei der Aufarbeitung der Proben sind. So können also polare Verbindungen aufgrund ihrer Flüchtigkeit mittels SPME nicht bestimmt werden, sehr wohl aber durch die Aufarbeitung der Proben mittels Flüssig-Flüssig Extraktion. Weiters ist eine Darstellung der Proben mittels PCA-Plot (Unscrambler®) möglich. Um dies zu veranschaulichen wurde ein PCA-Plot der mittels SPME bestimmten Proben erstellt. Anhand dieser Graphiken kann man deutlich erkennen, dass sich die Schilcherweine verschiedener Weinproduzenten aus dem Jahrgang 2006 hinsichtlich ihrer Charakteristik deutlich voneinander unterscheiden. Vor allem aber kann man erkennen welche aromarelevanten Verbindungen welchen Wein determinieren. So wird das Aroma der Schilcherweine S1 und S2 vor allem durch Ester wie Isoamylacetat, Hexylacetat und B-Phenylacetat geprägt, während die Probe S3 durch terpenoide Verbindungen wie α -Terpinen, Linalool, Nerolidol sowie dem nach Hyazinthe riechenden Alkohol Hotrienol beschrieben wird. Im Gegenzug dazu unterscheidet sich der Schilcher S4 signifikant von den anderen Proben aufgrund seiner Vinifikation und einer *Brettanomyces* Infektion, die durch die Verbindungen 4-Ethylguaiacol und 4-Ethylphenol gekennzeichnet wird.

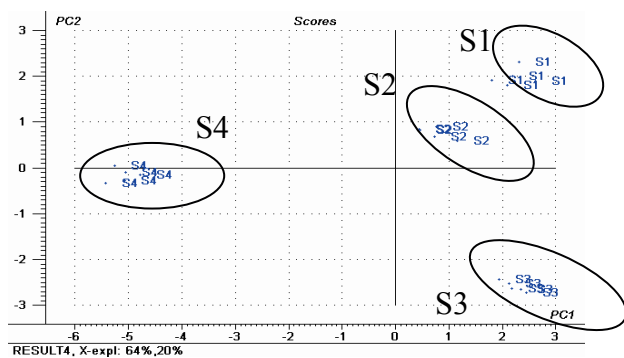


Abb. 3: PCA-Plot der mit SPME bestimmten Proben

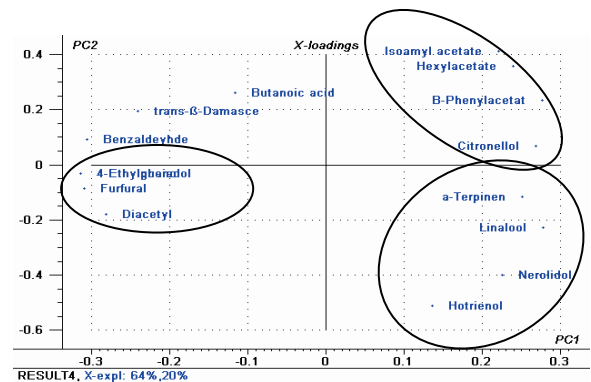


Abb. 4: PCA-Plot der mit SPME bestimmten Proben

Im Zuge dieser Untersuchungen wird als weiteres analytisches Modell zur Erhaltung aufschlussreicher Information die Solid Phase Extraction (SPE) (7)+(8) herangezogen. Da neben Säuren und deren Ester auch Terpene eine wichtige Rolle im Aroma von Weinen spielen, wurden bei Anreicherung der Weine auf Festphasenkartuschen vor allem terpenoide Verbindungen berücksichtigt und anschließend gaschromatographisch bestimmt.

Tab. 1: In Wein vorkommende Terpene, ihre Olfaktorische Beschreibung¹, Odour Thresholds² [mg/kg] und Konzentration in Weinen [$\mu\text{g/L}$] (9)

Verbindungen	Geruch	Odour Thresholds [mg/kg]	Konzentration in Weinen [$\mu\text{g/L}$]
α -Terpinen	Zirone	0,085	8,92
Limonen	Zitrone, Orange	0,004 - 1,0	n.d.
γ -Terpinen	Terpentin, gasartig	0,26 - 1,0	n.d.
Linalool	Lavendel	0,03	9
Terpineol	Most, Öl, Anis, Minze	0,25 - 1,0	13,8
D-Citronellol	Rose	0,7	17,1
Nerol	süßlich	0,5 - 0,7	23
Geraniol	Rose, Geranie	0,2 - 5,6	64,2
Maltol	Maltol	8 - 21	22,2-210
Furaneol	Karamel	0,005	>1mg/L
Nerolidol	holzig, blumig, wachsartig	1,0	7,5-150

IDENTIFIKATION GERUCHSAKTIVER VERBINDUNGEN

Welche aromaaktiven Verbindungen im Endeffekt jedoch für die Ausbildung des Schilcherbouquets verantwortlich sind, wird durch den Einsatz der Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O) durch eine Kombination aus „Sniffing-Analyse“ und Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) beschrieben.

Kriterien bei der Identifikation geruchsaktiver Verbindungen:

- RI auf 2 verschiedenen Säulen (Wax, HP-5)
- Geruch mit Referenz aus Datenbank
- MS

LITERATUR /REFERENZEN

- (1) **Wikipedia:** <http://de.wikipedia.org/wiki/Schilcher>
- (2) **Schilcherfibel:** www.deutschlandsberg.at/tour/spez/fibel1.html
- (3) **Jackson R.S., Wine tasting: A professional handbook, 2002, Food Science and Technology, International Series, Academic Press, ISBN 0-12-379067**
- (4) **Linssen J.P.H, Janssens J. L. G. M., Roozen J.P., Posthumus M. A., Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages, Food chemistry 1993, vol. 46, n°4, pp. 367-371 (17 ref.), ISSN 0308-8146**

¹ www.flavournet.org

² Van Gemert L. J., 2003, Odour Threshold, Compilations of odour threshold values in air, water and other media, Published by Oliemans Punter & Partners BV, The Netherlands, ISBN-13: 978-90-810894-1-8

- (5) Somers T. C., Evans M.E., 1977, Spectral Evaluation of Young Red Wines: Anthocyanin Equilibria, Total Phenolics, Free and Molecular SO₂, "Chemical Age", Journal for the Science of Food and Agriculture, 28, 279-287
- (6) Martí M. P., Mestres M., Sala C., Busto O., Guasch J., 2003, Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography Olfactometry Analysis of Successively Diluted Samples. A new Approach of the Aroma Extract Dilution Analysis applied to the Characterization of Wine Aroma, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003, 51, 7861-7865
- (7) Pineiro Z., Palma M., Barroso C.G., 2004, Determination of terpenoids in wines by solid phase extraction and gas-chromatography, Analytica Chimica Acta 513 (2004) 209-214
- (8) Ferreira V., Sharman M., Cache J. F., Dennis J., 1995, New and efficient microextraction/ solid-phase extraction method for the gas chromatographic analysis of wine volatiles, Journal of Chromatography A, 731 (1996) 247-259
- (9) Somers T. C., Evans M.E., 1977, Spectral Evaluation of Young Red Wines: Anthocyanin Equilibria, Total Phenolics, Free and Molecular SO₂, "Chemical Age", Journal for the Science of Food and Agriculture, 28, 279-287