

Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie, TU München, Freising-Weihenstephan
Chemisches Untersuchungsamt, Trier

Möglichkeiten des Nachweises der Zuckering von Wein über die Bestimmung von Wasserstoff-Isotopenverhältnissen ¹⁾

VON

J. DUNBAR, H.-L. SCHMIDT und R. WOLLER

A possible method for the detection of added sugar in wine using hydrogen isotope determinations

S u m m a r y . — A method for the detection of beet sugar additions to wine using isotope ratio measurements of the carbon-bound hydrogen atoms of sugars is reported. Because the hydroxyl hydrogen atoms in sugars readily exchange with water, a method for their removal via formation of the nitric acid esters was developed. Additionally the derivatisation served as an isolation step for the extraction of sugar from wine, must and sugar beet juice. The combustion and preparation of the samples through to H₂ for the measurement of the isotope ratios by mass spectrometry is also described.

For 47 beet sugar samples a mean δD value of -119 ± 5 ‰ for the non exchangeable hydrogen atoms was found, whereas for 33 unsugared musts and wines the mean was -70 ± 3 and -67 ± 6 ‰, respectively. In the case of unsugared musts that fell outside this range, δD measurements of the water fraction could be used to provide additional information. Fermentation was found to have no effect on the δD value of the residual sugar.

As would be expected, when beet sugar was added to wines and musts the δD values of the residual sugar was found in the range -80 to -115 ‰.

The examination of a series of commercial "Qualitätswein" samples also showed the expected sugar addition, however possible additions to several "Spätlese" and "Kabinett" wines were also detected. Additional research into some of the possible sources of error is still needed, nevertheless the present reported method appears to be suitable for the detection of sugar additions to wine in most cases.

Einleitung

Der Zusatz von Zucker zu Traubenmost und Jungwein mit dem Ziele einer Anhebung des natürlichen Alkoholgehaltes und damit einer „Verbesserung“ des Weines ist in der Bundesrepublik Deutschland und in der gesamten Europäischen Gemeinschaft nur unter ganz bestimmten Umständen gestattet. Dem Deutschen Weingesetz (1982) zufolge darf nur bei Tafel- und Qualitätsweinen bestimmter Anbauggebiete ein Zusatz von Saccharose zur Erhöhung des Alkoholgehaltes erfolgen. Qualitätsweine mit Prädikat (Kabinettweine, Spätlesen, Auslesen, Beeren- und Trockenbeerenauslesen) dürfen nicht angereichert werden. Dieses Gesetz wird immer wieder umgangen, wie z. B. die im Jahre 1982 durchgeführten Strafverfahren und ausgesprochenen Strafbefehle auf dem Weinsektor zeigen.

Eine sichere Methode zum Nachweis eines Zuckerzusatzes zum Wein existiert bisher nicht. MARTIN *et al.* (1982) publizierten kürzlich ein Verfahren auf der Basis der NMR-Bestimmung von schwerem Wasserstoff in Ethanol, das aber noch keine offizielle Anerkennung erhalten hat. So ist man nach wie vor auf indirekte Indizien für eine Zuckering von Wein angewiesen. Zu diesen gehören:

¹⁾ Herrn Prof. Dr. F. KORTE zum 60. Geburtstag in Freundschaft gewidmet.

- a) ein auffälliges Mißverhältnis zwischen Gesamtalkohol und sonstigen Weinhaltstoffen (hier müssen jedoch Herkunft, Jahrgang und Rebsorte Berücksichtigung finden);
- b) ein Glucose/Fructose-Verhältnis, das sich deutlich von jenem unterscheidet, das man bei den Weinen kennt, deren Gärung unterbrochen worden ist (die Aussagekraft dieser Verhältniszahl schwindet, wenn der Weinerzeuger die Verwendung von Süßreserven nachweisen kann);
- c) ein erhöhter Gehalt an Hydroxymethylfurfural (ein Indiz, das seine Bedeutung in letzter Zeit stark verloren hat, weil das gern verwendete Süßungsmittel „Flüssigzucker“ durch enzymatische Verfahren hergestellt wird, so daß es die Indikator-Verbindung nicht enthält).

Auf der anderen Seite hat sich die Bestimmung des Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses als eine sichere Methode zum Nachweis von Produkten aus der Gruppe der sogenannten C₄-Pflanzen, unter denen vor allen Dingen Mais, Zuckerrohr, Sorghum und Hirse eine Bedeutung in der Ernährung haben, in Nahrungsmitteln erwiesen (WINKLER und SCHMIDT 1980, BRICOUT 1982). Eine Zuckering von Säften mit Saccharose aus Zuckerrohr ist deshalb leicht nachzuweisen, und so gelang DUNBAR (1982 a) der Aufbau einer einwandfreien Methode zur Untersuchung der Zuckering von neuseeländischem Wein auf der Basis des Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses. In Europa wird Zucker aus Zuckerrüben gewonnen, die wie Reben C₃-Pflanzen sind. Die Kohlenstoff-Isotopendiskriminierung bei der Photosynthese ist bei beiden Pflanzen gleich, und ihre Produkte können nicht aufgrund des Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses unterschieden werden. Demgegenüber könnten verschiedene Wasserstoff- und Sauerstoff-Isotopenverhältnisse Basis für eine Unterscheidung von Produkten aus den beiden Pflanzen sein.

Infolge von Isotopeneffekten bei der Evapotranspiration reichern sich die schweren Isotope von Wasserstoff und Sauerstoff im Blattwasser wachsender Pflanzen an (FÖRSTEL 1979), und diese Anreicherung ist um so höher, je heißer das Klima ist, in dem die Pflanzen wachsen. Aufgrund dieser Tatsache konnten Fruchtsäfte und Moste bestimmten Ursprungsländern zugeordnet und Zusätze von Wasser zum Wiederverdünnen eingedickter Säfte erkannt werden (BRICOUT und MERLIVAT 1971, BRICOUT 1973, 1975). Analog konnte DUNBAR (1982 b) den Zusatz von Wasser in Weinen nachweisen. Da der Aufbau von organischem Material in den Pflanzen unter Benutzung des Blattwassers geschieht und da Isotopeneffekte bei der Biosynthese von organischem Material zu weiteren Verschiebungen des Verhältnisses der Wasserstoff- und Sauerstoffisotope führen werden, ist zu erwarten, daß ort- und artspezifische Wasserstoff-Isotopenverhältnisse im organischen Material bestimmter Pflanzen vorkommen. Tatsächlich konnte BRICOUT (1978) Unterschiede des δD -Wertes²⁾ für Zucker aus Rüben, Rohr und Trauben finden, die er auf Unterschiede des Klimas zurückführte.

In der vorliegenden Arbeit werden systematische Untersuchungen über den δD -Wert von Zuckern aus Traubenmost, Rübensaft und von technisch gewonnener Saccharose sowie von Restzucker aus Wein durchgeführt. Dabei wird der Einfluß von Klima, Standort und Jahrgang berücksichtigt mit dem Ziel, eine Methode zu entwickeln, mit der eine Zuckering von Wein nachgewiesen werden kann.

²⁾ Der δD -Wert ist die in Promille angegebene Abweichung des ²H/¹H (D/H)-Verhältnisses einer Probe relativ zu einem Standard, hier dem des VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water):

$$\delta D [‰] = \frac{([D]/[H])_{\text{Probe}} - ([D]/[H])_{\text{Standard}}}{([D]/[H])_{\text{Standard}}} \cdot 1000$$

Material und Methoden

Herkunft des Untersuchungsmaterials. — Weine verschiedener Jahrgänge, verschiedener Qualitäten und verschiedener Herkunft wurden freundlicherweise von der Staatl. Weinbaudomäne Trier zur Verfügung gestellt. Traubenmoste wurden uns von der Staatl. Weinbaudomäne Niederhausen/Nahe, der Firma Rübsamen, Bad Dürkheim, der Zentralkellerei Mosel-Saar-Ruwer, Bernkastel-Kues, dem Weingut A. WEBER, Bodenheim/Rheinhausen und Herrn Prof. F. MATZNER, Weihenstephan, überlassen. Verschiedene Zucker wurden uns von der Südzucker AG zur Verfügung gestellt; die frischen Rüben stammten aus hiesigen Anbaugebieten.

Isolierung von Zuckern aus Wein, Most und Rübensaft. — 150–300 ml Wein oder Most wurden im Vakuum lyophilisiert, bis eine Gewichtsabnahme des Rückstandes nicht mehr festzustellen war. Der dann erhaltene Rückstand wurde unmittelbar der Derivatisierung unterzogen (s. im Folgenden). Zur Gewinnung des Zuckers aus Zuckerrüben wurden Rüben unmittelbar nach der Ernte gereinigt und geschält. Die inneren Teile wurden zerkleinert und homogenisiert, anschließend wurde das Homogenat durch ein Tuch filtriert; aus dem Filtrat wurde durch Lyophilisieren das Wasser isoliert (s. u.). 100 ml Rübensaft wurden mit 5 g CaO ca. 5 min auf 95 °C erhitzt. Die Flüssigkeit wurde von dem sich bildenden Niederschlag dekantiert, anschließend durch Zentrifugieren weiter gereinigt. Nach Neutralisation mit HCl wurde lyophilisiert; der Rückstand diente ohne weitere Reinigung zur Derivatisierung. Für die Untersuchung des δD -Wertes von Wasserproben wurden die Lösungen in einem geschlossenen System lyophilisiert; das auf diese Weise erhaltene Wasser wurde unmittelbar für die Reduktion eingesetzt. Häufig konnte auch die Lösung direkt in die Verbrennungsapparatur injiziert werden.

Nitrierung der Zucker. — Der Wasserstoff an den OH-Gruppen der Kohlenhydrate tauscht mit dem des Wassers aus; deshalb ist sein Isotopengehalt von der Vorbehandlung der Kohlenhydrate abhängig. Für die Isotopenanalyse des an Kohlenstoff gebundenen nicht-austauschenden Wasserstoffs wurden die Salpetersäureester der Kohlenhydrate hergestellt, die den an Sauerstoff gebundenen Wasserstoff nicht mehr enthalten. Über die Entwicklung und Prüfung der entsprechenden Methode wird an anderer Stelle berichtet (DUNBAR und SCHMIDT 1984). Die aus Wein, Most oder Zuckerrübensaft erhaltenen Lyophilisate wurden unmittelbar für die Nitrierung verwendet, handelsübliche Saccharose wurde durch Mörsern in einen fein verteilten Zustand gebracht. Die Zucker wurden mit einer 30fachen Gewichtsmenge an Nitriersäure (bei 0 °C 50 ml rauchende HNO₃ mit 25 ml Eisessig und 25 ml Essigsäureanhydrid vorsichtig unter Kühlen vereinigt) 4 h bei 5 °C gehalten, dann wurde das Gemisch in 50 ml Eiswasser eingegeben, wobei die Zuckerderivate ausfielen. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser neutral gewaschen, dann im Vakuum bei 25 °C 12 h getrocknet und anschließend mindestens 4 d bei 5 °C im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxid gehalten.

Die getrockneten Derivate waren in allen Fällen farblose bis schwachgelbe, klebrige halb feste Massen. Die Elementaranalyse ergab die erwarteten Kohlenstoff- und Wasserstoff-Werte, so daß die Derivatisierung gleichzeitig eine Abtrennung der Zucker von allen anderen Inhaltsstoffen des Weines bedeutete.

Verbrennen der Analysenproben und Herstellen von H₂ als Meßgas. — Das Verbrennen der Analysenproben und die anschließende Reduktion des dabei entstehenden Wassers wurde in einem geschlossenen System nach Abb. 1 vorgenommen. Im Falle des Verbrennens von unverändertem organischen Material war CuO der Verbrennungskatalysator, das Transportgas war ein Gemisch aus 20 % O₂ und 80 % N₂, und die Reaktion wurde bei 800 °C durchgeführt. Bei der Verbrennung

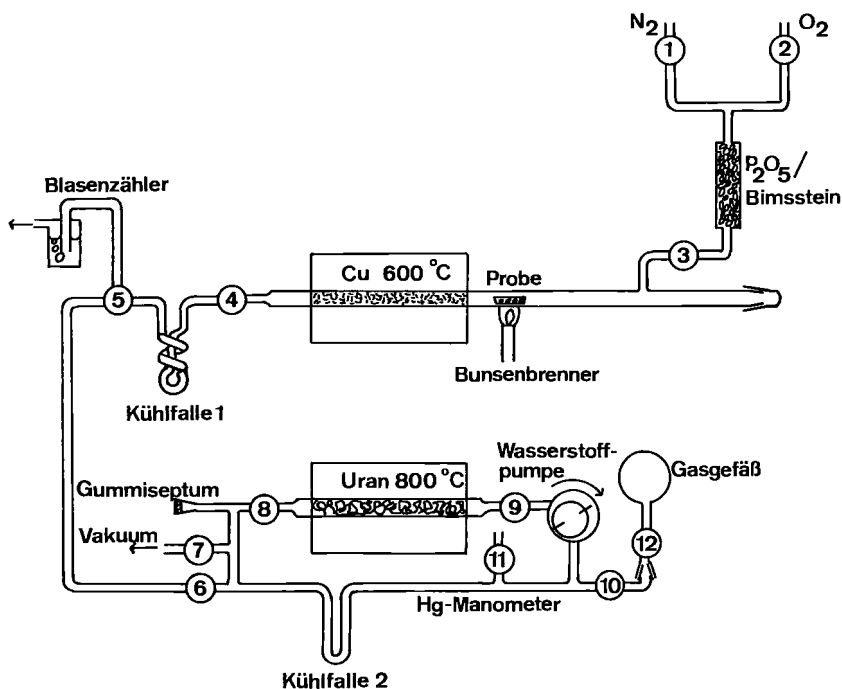


Abb. 1: Apparatur zur Bereitung von H_2 -Gas aus organischem Material. Verbrennungsrohre Quarz \varnothing 15 mm, Glasrohre \varnothing 8 mm. Die Umlaufpumpe ist eine magnetisch betriebene Drehschieberpumpe aus Messing (H. STICHLER, persönliche Mitteilung). Die Kreise mit Nr. bezeichnen Vakuum-Beutelhähne. Füllung der Öfen Cu-Draht für Elementaranalyse, Uran U. AF 00 20 00 der Société Industrielle de Combustible Nucleaire, Veurey, F.

Device for the preparation of H_2 -gas from organic material. Combustion tubes quartz 15 mm diameter, glass tubes 8 mm diameter. The circulation pump is a magnetic rotary slide valve pump of brass (H. STICHLER, personal communication). The circles with Nr. indicate vacuum stop-cocks. The catalysts in the furnace were Cu wire for elemental analysis and uranium U. AF 00 20 00 of the Société Industrielle de Combustible Nucleaire, Veurey, F.

der Salpetersäureester enthielt das Verbrennungsrohr Cu, das auf $600^\circ C$ erhitzt war (Reduktion der Stickoxide), und die Substanzen wurden zunächst in reinem Stickstoff verbrannt.

Nach Einführung von z. B. 50 mg Pentanitrohexose oder 45 mg Octanitrosaccharose wurde die Apparatur 5 min mit sorgfältig getrocknetem N_2 gespült (Hähne 4 und 5 zum Blasenzähler offen). Die Falle 1 wurde auf $-100^\circ C$ gekühlt (Ethanol mit flüssigem N_2), dann wurde Hahn 3 geschlossen, damit während der explosionsartigen Verbrennung kein Wasser in das Phosphorpentoxid zurückdiffundierte. Unmittelbar danach wurde der Trägergasstrom (jetzt 20 % O_2 und 80 % N_2) wieder eingeschaltet, und das Verbrennungsschiffchen wurde bis zur Rotglut erhitzt. Dann wurde weitere 5 min mit N_2 gespült, anschließend die Kühlung der Falle 1 auf $-180^\circ C$ gewechselt, der Hahn 5 zur Apparatur geöffnet und diese über Hahn 7 evakuiert. Hahn 10 und Hahn 7 wurden geschlossen, und das Wasser wurde in Falle 2 umkondensiert (Wasserproben können zur Analyse durch ein Septum eingeführt werden). Nachdem Hahn 6 geschlossen und die Kühlung von Falle 2 entfernt war, wurde das Gas 12 min im Kreislauf umgepumpt. Die Reduktion (Ofen 2 mit Uran von $800^\circ C$) ist manometrisch zu ver-

folgen. Schließlich wurde der Wasserstoff durch Öffnen von Hahn 10 in das evakuierte Gasgefäß expandiert; dieses Gefäß konnte dann zur massenspektrometrischen Analyse abgenommen werden.

Massenspektrometrische Isotopenanalyse. — Das Isotopenverhältnis wurde an einem VG Micromass 902 Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (Vacuum Generators, Berlin) gegen das eines Standards gemessen, der aus 8 μ l VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water) in entsprechender Weise hergestellt worden war. Der Ionenstrom von Probe und Standard wurde automatisch verglichen und der δ D-Wert durch einen programmierten Rechner ausgedruckt. Während die Herstellung der Zuckerderivate von jeder Analysenprobe nur einmal durchgeführt wurde, geschah die Verbrennung und Isotopenverhältnismessung von jeder Probe dreifach.

Ergebnisse

1. Zucker aus Zuckerrüben

Der δ D-Wert des Wassers aus frisch geernteten Zuckerrüben aus der Gegend von Freising lag zwischen -68 und -70 ‰; damit unterscheidet er sich praktisch nicht von dem des Grundwassers in Süddeutschland (berechnet nach FÖRSTEL 1982: -70 ‰). Das Blattwasser aus den gleichen Zuckerrüben zeigte mit -64 ‰ eine leichte Anreicherung von schwerem Wasserstoff. Dabei ist allerdings zu bedenken, daß dieses Wasser zum Zeitpunkt der Ernte, also im Herbst bei geringer Sonneneinstrahlung, sicher nicht repräsentativ für das ganze Jahr ist; vielmehr muß im Sommer mit einer höheren Anreicherung gerechnet werden. Der δ D-Wert des Zuckers aus den Rüben lag bei -121 ‰. Der Isotopengehalt des Zuckers wird also einerseits durch die Anreicherung

Tabelle 1

δ D-Werte der Salpetersäureester von Saccharose aus Rüben · Versuch einer Zuordnung zur Herkunft

δ D values of the nitric acid esters of sucrose from beets · Attempt of an assignment to origin

Norddeutschland δ D [‰]		Westdeutschland δ D [‰]		Süddeutschland δ D [‰]	
-118,9	-121,0	-115,0	-112,2	-124,6	-121,2
-110,1	-118,0	-118,0	-116,3	-110,8	-123,5
-125,1	-119,8	-113,9	-120,4	-116,3	-120,6
-115,3	-111,8	-110,5	-120,1	-117,7	-120,5
-123,1	-123,9	-109,2	-123,8	-115,4	-117,6
-120,3	-116,2	-118,7		-108,2	-122,6
-117,8	-124,4			-114,2	-130,4
-118,2	-121,2			-123,3	-124,7
-118,8	-117,6			-121,4	
-125,4					
Mittelwert	σ	Mittelwert	σ	Mittelwert	σ
-119,3	$\pm 4,2$	-116,2	$\pm 4,5$	-119,6	$\pm 5,5$
		Gesamt- Mittelwert	σ		
		-118,7	$\pm 4,9$		

des Deuteriums über die Evapotranspiration, andererseits durch Isotopeneffekte bei der Biosynthese geprägt.

Der o. g. δD -Wert des Zuckers aus frischen Rüben lag genau in dem Bereich, der auch für Saccharose verschiedener Provenienzen und verschiedener Jahre gefunden wurde (Tabelle 1). Dies beweist, daß die δ -Werte des an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoffs von der Gewinnungsmethode und dem Isotopengehalt des bei der Kristallisation verwendeten Wassers unabhängig sind. Der Mittelwert für alle 47 Proben lag bei -119 ± 5 ‰. Zusammenhänge zwischen δD -Wert und Herkunft waren nicht eindeutig zu erkennen (eine Probe aus Frankreich zeigte den sehr hohen Wert von $-126,4$ ‰), was nicht verwunderlich ist, da bei der Fabrikation in großen Konzernen wahrscheinlich Rüben aus verschiedenen Regionen in der gleichen Fabrik aufgearbeitet werden. Ebenso ließ sich kein Bezug des δD -Wertes der verschiedenen Zucker zu einem Erntejahr aufstellen. Diese Frage ist aber für die vorliegenden Untersuchungen ohne Bedeutung, da bei einem Nachweis der Zuckeringung von Wein nicht davon ausgegangen werden kann, daß ein bestimmter Zucker aus einer bestimmten Provenienz verwendet wurde.

Tabelle 2

δD -Werte der Salpetersäureester von Zuckern und Wasser aus Traubenmosten der Ernte 1982. Proben im rechten Teil der Tabelle gezuckert (die Zuckeringung war vor der Analyse nicht bekannt). Reben: G = Gutedel, R = Riesling, SS = Scheurebe + Silvaner. Herkunft: M = Mosel, N = Nahe, RH = Rheinhessen, RP = Rheinpfalz, W = Weihenstephan

δD values of the nitric acid esters of sugar and of water from musts from the 1982 harvest. The samples in the right part of the table were sugared (the sugar addition was not known before the analysis). For abbreviations of grapes and origin see German text

Herkunft/ Rebe (ungezuckert)	δD [‰]		Herkunft/ Rebe (gezuckert)	δD [‰]	
	Zucker	Wasser		Zucker	Wasser
N/R	-66,5	-38,7	RP	-80,4 ¹⁾	-26,8
N/R	-70,7	-38,3	RP	-88,3	-18,0
M	-72,6	—	RH/SS	-114,0	-24,2
M	-71,0	—	RH/SS	-111,5	-23,4
M	-65,1	—	RH/SS	-114,0	-28,1
RP	-71,0	-23,8			
RP	-68,4	-24,6			
RP	-73,2	-19,2			
W/G	-90,1	-46,6			
Mittelwert außer W/G	$-69,8 \pm 2,9$				

¹⁾ Zuckeringung nicht bekannt.

2. Zucker aus Traubenmosten und Wein

Aufgrund des Aufarbeitungsverfahrens liegen zur Analyse des Zuckers aus Most und Wein Gemische der Salpetersäureester von Glucose und Fructose vor. Im Falle von Most ist das Verhältnis etwa 1:1, im Restzucker aus Wein kann es recht unterschiedlich zusammengesetzt sein. Deshalb ist im Folgenden nur von „Zucker“ bzw. „Zuckerderivaten“ die Rede.

Entsprechend den in Tabelle 2 zusammengefaßten Resultaten für den Zucker aus ungezuckertem Most lag der Mittelwert der δD -Werte bei $-69,8 \pm 2,9$ ‰, sie sind also eindeutig von jenen für Rübenzucker verschieden. Die Werte für den Zucker aus gezuckerten Mosten lagen zwischen den Mittelwerten für Most- und Rübenzucker, und im Falle eines Mostes aus der Rheinpfalz, bei dem der genaue Grad der Zuckering bekannt war (30 % des Gesamtzuckers stammte aus Rüben), entsprach der aus diesen Mittelwerten berechnete Wert (-86 ‰) recht genau dem gefundenen ($-88,3$ ‰; vgl. dazu auch Tabelle 4). Ein außergewöhnlich stark negativer Wert, der einem Rübenzuckerzusatz von ca. 30 % entspräche, wurde für den Zucker aus dem Weihenstephaner Most gefunden. Die Analyse des zugehörigen Wassers ergab jedoch ebenfalls einen besonders negativen Wert, so daß entweder das von den z. T. künstlich bewässerten

Tabelle 3

δD -Werte der Salpetersäureester von Restzucker aus ungezuckerten Weinen („Standardweine“) · Mehrfache Angaben sind Werte, die durch die getrennte Aufarbeitung des Inhaltes verschiedener Flaschen erhalten wurden

Reben: Ke = Kerner, MT = Müller-Thurgau, R = Riesling, SB = Spätburgunder, Si = Silvaner · Herkunft: A = Ahr, MSR = Mosel, Saar, Ruwer, N = Nahe, RH = Rheinhessen, RP = Rheinpfalz · Qualität: A = Auslese, K = Kabinett, S = Spätlese

δD values of the nitric acid esters of the residual sugar from nonsugared wines („standard wines“) · Double indications are originating from the independent preparation of the content of different bottles · For abbreviations of grapes, origin and quality see German text

Jahr-gang	Rebe	Her-kunft	Qualität	Lage	δD [‰]	
1968	R	MSR	K	Serriger Vogelsang	-78,5	
1973		MSR	K	Serriger Vogelsang	-58,1	
1975	R	MSR	A	Kaseler Kehrnagel	-68,7	
1975	R	MSR	A	Trierer Deutschherrenberg	-65,9	
1976	E	MSR	A	Trierer Deutschherrenberg	-60,2	
1976		MSR	A	Trierer St. Maximiner Kreuzberg	-60,4	
1976	R	MSR	A	Ockfener Heppenstein	-71,9	-70,1
1976	R	MSR	A	Ockfener Bockstein	-70,9	-65,9
1976		MSR	S	Avelsbacher Hammerstein	-66,0	
1976	R	MSR	A	Avelsbacher Hammerstein	-74,6	
1976		MSR	K	Avelsbacher Rotlei	-68,3	
1979	R	MSR	S	Schweicher Klostergang	-66,9	
1979	R	MSR	S	Serriger Vogelsang	-61,6	
1979		MSR	K	Serriger Heiligenborn	-60,8	-65,9
1979	R	MSR	S	Trierer Deutschherrenköpfchen	-65,5	-68,1
1979		MSR	K	Trierer Deutschherrenköpfchen	-71,1	
1980	R	MSR	K	Serriger Vogelsang	-68,5	
1975	Si	N	K	Binger Kirchberg	-55,7	
1976		N	A	Schloßböckelheimer Kupfergrube	-72,0	-71,0
1979	MT	N	S	Kreuznacher Monhard	-77,8	
1978	SB	A	K	Marienthaler Klostergarten	-69,6	
1979	R	RH	S	Niersteiner Auflangen	-64,2	-62,3
1979	Ke	RH	S	Oppenheimer Herrenberg	-65,8	
1980	Ke	RP	K	Ruppertsberger Linsenbusch	-65,8	
Mittelwert					-67,0 ± 5,8	

Reben aufgenommene Wasser oder die Evapotranspirationsrate von der Norm abwichen. Der zuletzt genannte Faktor könnte klimatisch oder durch eine Eigenart der Rebsorte bedingt sein. In dieses Schema passen allerdings nicht die δD -Werte für Zucker und Wasser der Moste von der Nahe. Über diese Zusammenhänge sind also noch weitere Untersuchungen erforderlich, die sicher dazu führen werden, die Streubreite für die Werte der Zucker einzuengen.

Der Mittelwert für Restzucker aus ungezuckerten Weinen (Tabelle 3: $-67,0\text{‰}$) unterscheidet sich kaum von jenem der Moste. Hieraus ergibt sich die sehr wichtige Schlußfolgerung, daß die Isotopendiskriminierung der alkoholischen Gärung (RAUSCHENBACH *et al.* 1979, MARTIN *et al.* 1983) nicht auf die ersten Schritte dieses Prozesses zurückwirkt und daß aus dem Isotopengehalt des Restzuckers auf jenen des Zuckers im Most rückgeschlossen werden kann (s. auch direkte Versuche hierzu in Abschnitt 3.). Ein Zusammenhang der δD -Werte der Zucker aus Wein mit dem Anbaugebiet, dem Jahrgang und der Qualität konnte nicht hergestellt werden. Es scheint sich lediglich herauszukristallisieren, daß Weine extrem schlechter Qualität, d. h. also solche mit sehr geringem Mostgewicht, bei denen eine „Aufbesserung“ am nächstliegenden ist, von vorneherein relativ stark negative δD -Werte haben, so daß eine Zuckering mit Rübenzucker den Wert für den Restzucker noch weiter zum Negativen verschieben würde, d. h. der Nachweis der Zuckering erleichtert würde.

3. Einfluß der alkoholischen Gärung auf den δD -Wert von Restzucker in Weinen

Die geringen Unterschiede der δD -Werte für Zucker aus Most und Wein lassen erwarten, daß die alkoholische Gärung trotz ihrer Isotopeneffekte kaum eine Verände-

Tabelle 4

δD -Werte eines Mostes während der Gärung (Gutedel, Weihenstephan 1982) · Zuckering mit Zuckern verschiedenen D-Gehaltes · δD -Werte der zugesetzten Zucker: Rübenzucker $-134,1\text{‰}$, Rohrzucker $-74,1\text{‰}$, Glucose $-20,1\text{‰}$, Fructose $-110,1\text{‰}$ · Werte in () berechnet aus Mischungsverhältnis; Angaben in % des Gesamtzuckers; n. b. = nicht bestimmt

δD values of a must during fermentation (Gutedel, Weihenstephan 1982) · Addition of sugars of different D-concentration · δD values of the sugars added: beet sucrose $-134,1\text{‰}$, cane sucrose $-74,1\text{‰}$, glucose $-20,1\text{‰}$, fructose $-110,1\text{‰}$ · Values in () calculated from the mixing relations; indications in % of total sugar; n. b. = not determined

Probe	Anfang		Teilvergärung Restzucker		Gärungsende Restzucker	
	(°Oe)	δD [‰]	(°Oe)	δD [‰]	(°Oe)	δD [‰]
Most allein	71	$-90,1$	—	—	30	$-91,6$
Most mit 21 % Rübenzucker	90	(-100)	53	$-102,0$	37	$-102,6$
Most mit 35 % Rübenzucker	109	(-106)	79	$-106,9$	64	$-104,3$
Most mit 28 % Rohrzucker	n. b.	(-86)	n. b.	n. b.	35	$-87,5$
Most mit 28 % Glucose + Fructose (1:1)	n. b.	(-72)	53	$-78,1$	32	$-77,7$

rung des δD -Wertes im Restzucker zur Folge haben würde. Um einen direkten Beweis hierfür zu erbringen, wurden die δD -Werte der Zucker in einem ungezuckerten und einem gezuckerten gärenden Most während verschiedener Stadien der Gärung untersucht. Aus Tabelle 4 geht zunächst hervor, daß der δD -Wert des Zuckers im Wein oder Most tatsächlich dem arithmetischen Mittel der δD -Werte der Ausgangszucker entspricht. Der Wert ändert sich auch nicht während der Gärung; die geringfügige Änderung nach Zusatz eines Gemisches von Glucose und Fructose entspricht der etwas schnelleren Vergärung der Glucose. Im Falle des Saccharosezusatzes verläuft die Inversion viel schneller als die Vergärung der Hexosen, so daß hier keine Veränderung des Isotopenverhältnisses beobachtet wird und der Restzucker nach der Gärung den δD -Wert wiedergibt, der zu Beginn vorlag.

Diskussion

Die Mittelwerte für den δD -Wert von Zuckern aus Rüben einerseits und aus Most und Wein andererseits unterscheiden sich erheblich. Die relativ stärkere D-Anreicherung bei Trauben geht wahrscheinlich auf deren stärkere Evapotranspiration zurück; in einem Rübenfeld mit höherer Luftfeuchte muß sie kleiner sein (FERHI und LETOLLE

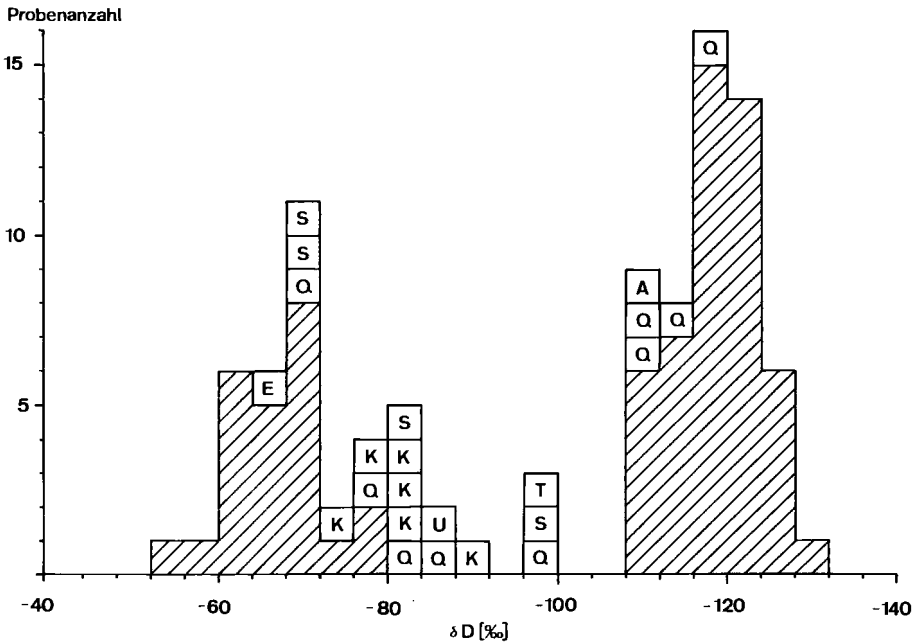


Abb. 2: δD -Werte der Salpetersäureester aller untersuchten Zucker. Schraffiert rechts Rübenzucker, links „Standardweine“ (ungezuckert). Nicht-schraffierte Handelsweine mit den Qualitätsbezeichnungen: A = Auslese, S = Spätlese, K = Kabinett, Q = Qualitätswein (Zuckerung erlaubt), T = Tafelwein (Zuckerung erlaubt). E = Wein aus Spanien, U = Ausbruch aus Ungarn.

δD values of the nitric acid esters of all analyzed sugars. Hatched to the right, beet sugar; to the left, standard wines (no sugar added). Not hatched, commercial wines with the quality indications: A = „Auslese“, S = „Spätlese“, K = „Kabinett“, Q = „Qualitätswein“ (sugar addition permitted), T = „Tafelwein“ (sugar addition permitted). E = wine from Spain. U = „Ausbruch“ from Hungary.

1977). Die Untersuchungen an Wasser aus Most haben aber auch Unterschiede in der Evapotranspiration zwischen den Reben selbst aufgezeigt, und zukünftige Untersuchungen müssen den δD -Wert des Wassers mit einbeziehen, da mit ihm möglicherweise Korrekturen der δD -Werte für den Zucker möglich sein werden. Nach neueren Untersuchungen von STERNBERG und DENIRO (1983) können außer Unterschieden in der Evapotranspiration auch unterschiedliche Isotopeneffekte biosynthetischer Reaktionen Ursache für verschiedene Wasserstoff-Isotopendiskriminierungen sein.

Bei einer praktischen Anwendung der Isotopenverhältnismessung zum Nachweis des Zusatzes von Rübenzucker zu Wein muß die breite Streuung in den Bereichen der δ -Werte für die entsprechenden Zucker berücksichtigt werden. Nach den bisher vorliegenden Ergebnissen wird man einen Verdacht auf Zuckerung aussprechen können, wenn der δD -Wert des Restzuckers negativer als -80‰ ist (Abb. 2). In diesen Bereich fallen — mit zwei Ausnahmen — alle untersuchten Qualitätsweine, andererseits kommt hier kein einziger der ungezuckerten „Standardweine“ vor. Dafür gibt es aber Kabinettweine, Spätlesen und Auslesen, die in den Bereich der Weine mit Zuckerung fallen. Alle diese Weine stammen aus dem Handel; bei einigen bestand von vorneherein der Verdacht auf Zuckerung. Auch unter den Mosten konnten die gezuckerten Proben aufgrund ihres δD -Wertes erkannt werden.

Wegen der Streuung innerhalb beider Bereiche ist eine quantitative Aussage über den zugesetzten Rübenzucker nicht möglich, doch lassen sich Aussagen über die Art und den Zeitpunkt der Zuckerung herleiten: Z. B. ist für die im Bereich des Rübenzuckers liegenden Weine anzunehmen, daß sie nachträglich gesüßt wurden. In solchen Fällen wäre eine Untersuchung des Gärungsalkohols, wie sie MARTIN *et al.* (1982) durchführen, zwecklos. Da die alkoholische Gärung mit großen Isotopeneffekten verläuft und da außerdem der größte Teil der Wasserstoffatome im Ethanol aus dem Wasser und nicht aus dem Zucker herrührt, wird wahrscheinlich nur eine Kombination der D-Bestimmung im Restzucker und im Ethanol zu einer sicheren Aussage über die Zuckerung führen. Darüber wird in einer weiteren Publikation berichtet werden.

Zusammenfassung

Es wird über einen Versuch berichtet, die Zuckerung von Wein mit Rübenzucker auf der Basis des Isotopenverhältnisses des Kohlenstoff-gebundenen Wasserstoffs nachzuweisen. Da der an Sauerstoff gebundene Wasserstoff austauscht, werden die Salpetersäureester der Zucker hergestellt. Die auf diese Weise erhaltenen Derivate dienen gleichzeitig zur Isolierung der Zucker aus Wein, Most und Rübensaft. Ihre Verbrennung und Umarbeitung zu H_2 für die massenspektrometrische Isotopenanalyse wird beschrieben.

Der mittlere δD -Wert des nicht-austauschbaren Wasserstoffs von 47 Proben Rübenzucker lag bei $-119 \pm 5\text{‰}$, der von (Rest-)Zucker aus 33 Proben von ungezuckertem Most oder Wein bei -70 ± 3 bzw. $-67 \pm 6\text{‰}$; hiervon stark abweichende Werte bei ungezuckertem Most lassen sich möglicherweise auf den δD -Wert des Mostwassers zurückführen. Nachweislich hat die alkoholische Gärung praktisch keinen Einfluß auf den δD -Wert des Restzuckers.

Bei gezuckerten Weinen und Mosten wurde der δD -Wert des Zuckers im erwarteten Bereich zwischen -80 und -115‰ gefunden. Die Untersuchung von Handelsweinen ergab bei fast allen „Qualitätsweinen“ den dort erwarteten Zuckerzusatz, die

Resultate bei einigen „Spätlesen“ und „Kabinettweinen“ legen den Verdacht auf Zuckering nahe. Nach dem zusätzlichen Studium noch offener Störfaktoren wird die von uns erarbeitete Methode geeignet sein, eine Zuckering von Wein in gewissen Bereichen nachzuweisen.

Dank

J. DUNBAR dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für die finanzielle Unterstützung. Dem Forschungsring des Deutschen Weinbaues bei der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (Vorsitzender: Ltd. MinRat Dr. UEING) ebenso wie dem Stabilisierungsfonds für Wein in Mainz sei an dieser Stelle für die Förderung der Arbeit mit Sachbeihilfen gedankt. Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. F. MATZNER, Weihenstephan, der die Durchführung der Versuche zur alkoholischen Gärung in seinem Laboratorium ermöglichte und sie mit Rat und Tat unterstützte.

Literatur

- BRICOUT, J., 1973: Control of authenticity of fruit juices by isotopic analysis. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chem.* **56**, 739—742.
- — —, 1975: Teneur en isotopes stables du jus de raisin, signification biologique et conséquences analytiques. *Int. Fruchtsaftunion, Wiss.-Techn. Komm.* **13**, 253—264.
- — —, 1978: Recherches sur le fractionnement des isotopes stables de l'hydrogène et de l'oxygène dans quelques végétaux. *Rev. Cytol. Biol. Vég., Bot.* **1**, 133—209.
- — —, 1982: Possibilities of stable isotope analysis in the control of food products. In: SCHMIDT, H.-L., FÖRSTEL, H. and HEINZINGER, K. (Eds.): *Proc. 4th Int. Conf. on Stable Isotopes*, 483—493. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
- — — et MERLIVAT, L., 1971: Sur le teneur en deutérium des jus d'oranges. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. D*, **273**, 1021—1023.
- DUNBAR, J., 1982 a: Detection of added water and sugar in New Zealand commercial wines. In: SCHMIDT, H.-L., FÖRSTEL, H. and HEINZINGER, K. (Eds.): *Proc. 4th Int. Conf. on Stable Isotopes*, 495—501. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
- — —, 1982 b: A study of the factors affecting the $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratio of the water of wine. *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* **174**, 355—359.
- — — and SCHMIDT, H.-L.: A method for the measurement of the $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratios of the carbon bound hydrogen atoms in sugar. *Fresenius Z. Anal. Chem.* (eingereicht).
- FERHI, A. and LETOLLE, R., 1977: Transpiration and evaporation as the principal factors in oxygen isotope variations of organic matter in land plants. *Physiol. Veg.* **15**, 363—370.
- FÖRSTEL, H., 1979: Abhängigkeit des $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisses im Blattwasser von den physikalischen Bedingungen der Umgebung. *Ber. Kernforschungsanlage Jülich* Nr. 1619.
- — —, 1982: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisse im Grundwasser der Bundesrepublik. *Ber. Kernforschungsanlage Jülich* Nr. 1784.
- MARTIN, G. J., MARTIN, M. L., MABON, F. and MICHON M.-J., 1982: Identification of the origin of natural alcohols by natural abundance hydrogen-2 nuclear magnetic resonance. *Analyt. Chem.* **54**, 2380—2382.
- — —, ZHANG, B. L., MARTIN, M. L. and DUPUY, M. L., 1983: Application of quantitative deuterium NMR to the study of isotopic fractionation in the conversion of saccharides to ethanols. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **111**, 890—896.
- RAUSCHENBACH, P., SIMON, H., STICHLER, W. und MOSER, H., 1979: Vergleich der Deuterium- und Kohlenstoff-13-Gehalte in Fermentations- und Syntheseethanol. *Z. Naturforsch.* **34**, 1—4.
- STERNBERG, L., and DENIRO, M. J., 1983: Isotopic composition of cellulose from C_3 , C_4 and CAM plants growing near one another. *Science* **220**, 947—949.

16. Weingesetz i. d. Fassung vom 27. 8. 1982. Bundesgesetzblatt I, S. 1196.
17. WINKLER, F. J. und SCHMIDT, H.-L., 1980: Einsatzmöglichkeiten der ^{13}C -Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung. Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. **171**, 85—94.

Eingegangen am 11. 7. 1983

Dr. J. DUNBAR
Prof. Dr. H.-L. SCHMIDT
Lehrstuhl für Allgemeine Chemie,
und Biochemie, TU München
D 8050 Freising-Weihenstephan

Dr. R. WOLLER
Chemisches Untersuchungsamt
Maximineracht 11 a
D 5500 Trier